АКАДЕМИЯ НАУК СОЮЗА ССР

МИКРОБИОЛОГИЯ

ЖУРНАЛ ОБЩЕЙ, СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОЙ
И ПРОМЫШЛЕННОЙ МИКРОБИОЛОГИИ

ТОМ XXIV. ВЫП. 5

СЕНТЯБРЬ — ОКТЯБРЬ

ИЗДАТЕЛЬСТВО АКАДЕМИИ НАУК СССР
МОСКВА

1955

МИКРОБИОЛОГИЯ

Главный редактор чл.-корр. АН СССР А. А. Имшенецкий

Секретарь Я. И. Раутенштейн

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

Н. Д. Иерусалимский, Н. А. Красильников,
Е. Н. Мишустин, К. И. Рудаков, М. В. Федоров,
В. Н. Шапошников

*ПО ВСЕМ ВОПРОСАМ ПОДПИСКИ НА ЖУРНАЛ «МИКРОБИОЛОГИЯ»
ОБРАЩАТЬСЯ ПО АДРЕСУ: МОСКВА, УЛ. КУЙБЫШЕВА, 8.
КОНТОРА «АКАДЕМКНИГА»*

Рукописи направлять по адресу:

Москва Б-64, Подсосенский пер., 21, Издательство Академии наук СССР,

Редакция журнала «Микробиология»

И. В. МИЧУРИН

ИВАН ВЛАДИМИРОВИЧ МИЧУРИН

(К 100-летию со дня рождения)

100 лет назад, 27 октября 1855 г., родился Иван Владимирович Мичурин, выдающийся советский биолог, великий преобразователь природы.

Своими трудами И. В. Мичурин заложил новый этап в развитии биологии, в развитии дарвинизма.

В результате свой многолетней деятельности он вывел более 300 ценных сортов плодовых и ягодных растений, получивших широкое распространение во всех областях Союза. Однако не в этом главная заслуга Мичурина.

Главная его заслуга в том, что он заложил основы советской агробиологической науки, обобщив и развив все лучшее, что было накоплено в этой области наукой и практикой. Он творчески развил учение Дарвина.

Дарвин, опираясь на большой фактический материал, создал теорию, объясняющую происхождение и развитие органического мира. После Дарвина материалистическое ядро его учения — учение о развитии органического мира, оказавшееся в глубоком противоречии с господствовавшими в биологии идеалистическими воззрениями, было опошлено основоположниками идеалистического направления — неодарвинизма (Вейсман, Морган и др.) и их последователями отрицанием принципиальной возможности управления изменчивостью организмов.

Одна из важнейших заслуг мичуринской биологии заключается не только в том, что она защитила материалистические положения учения Дарвина, но и в том, что она развила и подняла это учение на новую ступень, разработав основу учения об управлении формообразованием организмов.

Трудами Мичурина дарвинизм становится творческим, действенным средством по планомерному изменению организмов в нужном для человека направлении.

Учение о единстве организмов и необходимых для их жизни условий — краеугольный камень мичуринской биологической науки. Исходя из этого положения, мичуринская биология показала, что природа организмов изменяется в соответствии с условиями жизни, что закономерности наследственности и ее изменчивости познаваемы, а следовательно, наука в состоянии управлять наследственностью.

«... при вмешательстве человека,— пишет Иван Владимирович,— является возможным вынудить каждую форму животного или растения более быстро изменяться и притом в сторону, желательную человеку. Для человека открывается обширное поле самой полезной для него деятельности...» (Соч., т. IV, 1948, стр. 158).

Мичурин дал стройное общебиологическое учение, и в его трудах каждый биолог найдет указания для правильного разрешения специфических задач, стоящих перед его специальностью.

В своей деятельности Мичурин руководствовался диалектико-материалистическим мировоззрением. Наиболее характерным для него является стремление глубоко познать объективные закономерности развития живой природы. Он учил, что для того, чтобы биологическая наука была в состоянии все больше и больше служить практике, она обязана постигать сложные биологические взаимосвязи, закономерности жизни и развития растений и животных.

Глубокое диалектическое понимание жизни и развития растительных организмов, их наследственности и изменчивости позволило Мичурину сделать многие теоретические обобщения исключительной важности. Ряд положений, которые у Дарвина носили характер догадок и предположений, в мичуринском учении сложились в стройную теорию.

Мичурин дал замечательное учение о вегетативной гибридизации и показал ее действенность как могучего фактора управления развитием растительных организмов и получения новых высокопродуктивных форм.

Мичурин дал стройное учение подбора пар при скрещивании и отбора в гибридном потомстве, позволяющее селекционеру в наиболее короткие сроки создавать ценные в хозяйственном отношении сорта.

Мичурин создал научную теорию акклиматизации растений. Он ввел в практику селекционной работы ряд принципиально новых научных методов — метод предварительного отбора, метод вегетативного сближения, метод посредника, метод опыления смесью пыльцы, метод ментора и другие методы управления развитием растения.

Селекционеры, в том числе работающие в области селекции микроорганизмов, должны всегда иметь в виду то огромное значение, которое Мичурин придавал выбору исходного сорта или вида для выведения новых сортов.

Он неоднократно указывал, что от селекционера требуется глубокое и всестороннее изучение свойств и качеств каждого исходного сорта или вида и последующее умелое воспитание полученных измененных форм. Без применения целесообразных режимов воспитания невозможна выработка у измененных форм твердой устойчивости вновь приобретенных свойств.

Творческое учение Мичурина, основанное на методах диалектического материализма, оказало плодотворное влияние на развитие всех отраслей биологической науки, в том числе и микробиологии.

Мичуринское учение помогло микробиологам Советского Союза, стран народной демократии и ряду ученых капиталистических стран освободиться от чуждых материализму идеалистических концепций — автогенеза, о монопольной роли хромосом в наследственности и др., господствовавших в биологии.

Микробиология располагает обширным фактическим материалом, наглядно иллюстрирующим, что морфологические, культуральные, биохимические и антигенные свойства микробов, а также отношение их к температуре, антибиотикам и другим воздействиям изменяются соответственно

влиянию внешней среды и что эти изменения наследственно закрепляются.

Учение Мичурина помогло микробиологам не только критически освоить накопленный материал по изменчивости микроорганизмов, но и с позиций этого учения более глубоко поставить исследования в области изучения закономерностей наследственности и ее изменчивости у микроорганизмов.

Мичуринская биология легла в основу исследований в области изучения обмена веществ у микроорганизмов с целью изыскания путей направленного изменения их наследственных свойств, а также управления вызываемыми ими биохимическими превращениями.

Воздействием условий существования советским ученым удалось вывести ряд новых полезных для промышленности и сельского хозяйства, медицины и ветеринарии форм грибов, бактерий и вирусов.

Как известно, Мичурин уделял большое внимание районированию сортов. Он неоднократно указывал, что нет универсальных сортов, пригодных для всяких условий. Эти указания сыграли большую роль в улучшении дела приготовления бактериальных удобрений, выявления и внедрения в практику активных местных рас микробов.

Несомненный интерес представляют проведенные в СССР и за рубежом исследования в области использования так называемых трансформирующих веществ. Эти исследования являются подтверждением правильности указания Мичурина о том, что «для того, чтобы изменить данный габитус растения, нужно суметь заставить растение принять в свой строительный материал такие части, которые прежде растением не употреблялись» (Соч., т. III, 1948, стр. 235).

Дальнейшие исследования в этом направлении заслуживают серьезного внимания, так как открывают пути для направленного изменения микроорганизмов.

Идеи Мичурина сыграли большую роль в развертывании исследований в области изучения стадийности развития микроорганизмов, роли и значения фильтрующихся форм микробов.

Хотя до сих пор еще нет единой трактовки как полученных результатов, так и общебиологического значения этих явлений, дальнейшие углубленные исследования в этой области несомненно помогут полнее овладеть процессом формообразования у микробов.

Как учению, опирающемуся на диалектический материализм, мичуринскому учению чужды догматизм и шаблон. Живая жизнь сложнее и многообразнее любых схем.

У различных организмов, несмотря на то, что их развитие подчинено единым общебиологическим закономерностям, механизм изменения наследственности протекает далеко не в одной и той же форме, и переход одних органических форм в другие совершается не всегда однозначно.

Каждый исследователь, пользуясь основными положениями мичуринской науки, обязан творчески применять их, исходя из биологических особенностей тех объектов, с которыми он работает, и от тех задач, которые перед ним стоят.

Чем глубже исследователь познает внутренние и внешние факторы

развития изучаемых им организмов, тем более доступным становится направленное изменение их.

Мичурин был ученым-новатором, умевшим органически соединять теорию с практикой и развивать исследовательскую работу в соответствии с практическими задачами социалистического строительства.

Основой во всех его исканиях было единство теории и практики. Ответ на общебиологические вопросы он искал путем разрешения конкретных задач.

Для подлинных мичуринцев «научное решение практических задач является наиболее верным путем к глубокому познанию закономерностей развития живой природы» (Лысенко).

60 лет творческой деятельности Мичурин отдал любимому делу, служению своему народу, своей Родине. «Иных желаний, как продолжать вместе с тысячами энтузиастов дело обновления земли, к чему нас звал великий Ленин, у меня нет», писал он (Соч., т. I, 1948, стр. 603).

Коммунистическая партия и Советское правительство создали Ивану Владимировичу Мичурину исключительно благоприятные условия для творческой работы, окружили его заботой и вниманием. Из одиночки-опытника, каким он был в дореволюционной России, он превратился в крупного руководителя советской биологической науки.

Основной принцип деятельности Мичурина «мы не должны ждать милостей от природы; взять их у нее — наша задача» стал девизом советских биологов.

Редакция

ПОТРЕБНОСТИ АНАЭРОБНЫХ БАКТЕРИЙ В ОКИСЛИТЕЛЬНО-ВОССТАНОВИТЕЛЬНЫХ УСЛОВИЯХ СРЕДЫ

И. Л. Работнова, Е. Г. Торопова и *М. Ю. Рабаева*

После открытия Пастером явления анаэробиоза возник вопрос о том, чем объяснить стремление анаэробов уйти от соприкосновения с кислородом воздуха.

Сначала предполагали, что кислород является ядом для анаэробов. Мак-Леод и Гордон (McLeod a. Gordon [8, 9, 10, 11]) дали этому иное объяснение. Они показали, что при соприкосновении анаэробов с воздухом в результате окисления ими субстрата образуется перекись водорода: $AH_2 + O_2 = H_2O_2 + A$.

Перекись, как известно, токсична уже в ничтожных количествах. Аэробы не страдают от ее образования, так как они обладают каталазой, разрушающей H_2O_2, а на анаэробов она действует губительно, так как они лишены каталазы и перекись накапливается в культуре, соприкасающейся с воздухом. Однако оказалось, что некоторые анаэробы — пропионовокислые [14], Bacteroides vulgatus [15] обладают каталазой и тем не менее являются анаэробами.

Наиболее правильное объяснение анаэробиоза дали Куостель и Стефенсон (Quastel a. Stephenson [13]). Они высказали предположение, что анаэробы — это такие микроорганизмы, которые не могут размножаться, если в среде слишком высокий окислительно-восстановительный потенциал, так как при этом инактивируются какие-то жизненно важные ферменты. Действительно, последующие исследования (Kligler a. Guggenheim [6], Aubel u. Aubertin [2], Aubel, Aubertin et Genevois [3], Prevot [12], Knight a. Filds [7], Hanke, Katz [5]) показали, что развитие анаэробов может происходить в присутствии воздуха на средах, rH_2 которых снижено восстановителями. Энгельгардт [1] также считает, что тяготение анаэробов к сниженному rH_2 объясняется тем, что некоторые жизненно важные ферменты инактивируются при высоком rH_2. Однако интервал rH_2, в котором развиваются анаэробы, точно не установлен. Одни полагают, что он весьма широк, от 0 до 18 и выше, другие считают его более узким.

Мы поставили своей задачей уточнить пределы rH_2, в которых протекает жизнедеятельность гнилостных анаэробов Bac. sporogenes и Bac. putrificus.

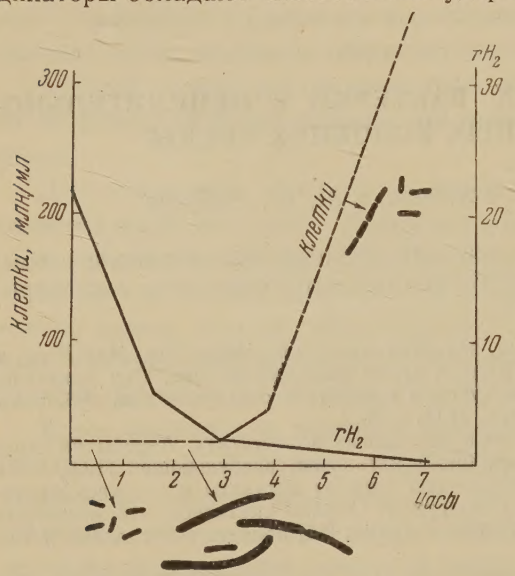
Для этой цели мы применили прием сопоставления изменений rH_2 в среде, происходящих при развитии культуры и динамики нарастания клеток.

Изменения rH_2 при развитии анаэробов

Опыты ставились в пробирках с МПБ + 0,2% агара. В качестве посевного материала вносилось 0,5 мл суточной культуры на 10 мл среды, что составляет 10—20 млн. активных вегетативных клеток на 1мл. Каждые 2—3 часа велось измерение rH_2 и отбирались пробы для подсчета клеток в препаратах по Виноградскому. Начальный rH_2 среды 20—22. Он очень быстро снижается до 2. Пока rH_2 снижается, размножения клеток нет. Очень интенсивное размножение начинается только после сильного снижения rH_2. На рисунке приведены данные одного из нескольких десятков аналогичных опытов. Во всех без исключения случаях наблюдается одна и та же закономерность: сперва снижается rH_2 и только после этого начинается интенсивное размножение клеток. Повидимому, бактерии, не размножаясь, снижают rH_2, а размножаться могут только в резко восстановленных условиях. Для того чтобы проверить это, следовало не дать бактериям снизить rH_2, задержать его падение и посмотреть, как это отразится на размножении.

Влияние забуферивания rH_2 на размножение анаэробов

Для забуферивания rH_2 были применены краски, rH_2-индикаторы. Индикаторы обладают способностью удерживать rH_2 в среде на уровне, при котором происходит восстановление (обесцвечивание) каждого из них. Были применены следующие индикаторы:



Схематическое изображение изменения rH_2 в культуре Bac. sporogenes, количества клеток и их морфологических свойств

Краска	Обесцвечивается на 50% при rH_2
Нейтральная красная .	3
Янус зеленый	5,1
Феносафранин . . .	5,3
Индиго-дисульфонат .	9,7
Индиго-тетрасульфонат	12,5
Метиленовая синяя . .	14,4
Тионин	16

Если добавить к МПБ + + 0,2% агара эти краски в виде 0,5% раствора до интенсивного окрашивания среды и произвести засев относительно небольшим количеством посевного материала — 10 млн/мл, то оказывается, что все индикаторы значительно задерживают развитие Bac. putrificus и все, кроме нейтралрот, задерживают развитие Bac. sporogenes. Если без добавления краски интенсивное размножение происходит через 10 часов, то в присутствии красок развитие задерживается до 24, 48 и более часов.

Для определенного количества посевного материала оказалось возможным подобрать такие концентрации красок, которые не только задерживают развитие бактерий на более или менее длительное время, но и совершенно не допускают его. Если при посеве внести 20 млн/мл клеток, то развитие наступает уже через 3 часа. Для того чтобы не допустить развитие при этом количестве посевного материала, нужно прибавить количества красок, указанные в табл. 1.

Таблица 1

Концентрации rH_2-индикаторов, не допускающие роста анаэробов

Краска	Bac. sporogenes		Bac. putrificus	
	мл 0,5%-ного раствора на 10 мл	конц. в среде в молях	мл 0,5-ного раствора на 10 мл	конц. в среде в молях
Нейтральная красная .	—	—	0,7	0,0013
Янус зеленый	0,5	0,0005	0,5	0,0005
Феносафранин	1,2	0,0023	0,7	0,0014
Индиго-дисульфонат . .	2,5	0,0025	2,0	0,0020
Индиго-тетрасульфонат	2,5	0,0017	2,0	0,0014
Метиленовая синяя . .	1,5	0,0025	1,0	0,0016

Интересно, что предельные концентрации разных красок — кроме януса зеленого — оказались довольно близкими.

Задержку развития можно объяснить тем, что краски действительно

забуферивают rH_2 на уровне, слишком высоком для анаэробов. Но возможно также, что краски обладают токсическим действием, не связанным с их свойством окислительно-восстановительных буферов.

Для того чтобы выяснить этот вопрос, мы добавляли в среду одновременно с красками различные восстанавливающие вещества. Если эти вещества, добавленные в безвредной концентрации красок, снизят их угнетающее действие, то, следовательно, краски действуют именно своими буферными окислительно-восстановительными свойствами. Если же краски проявят свое токсическое действие и в присутствии восстанавливающих веществ, то, следовательно, они токсичны сами по себе.

Мы остановились на следующих восстановителях: гидросульфите натрия, аскорбиновой кислоте и водороде. Аскорбиновая кислота в количестве 1—2 г/л безвредна, водород также. Для гидросульфита безвредное количество было найдено из опыта. 0,01% и 0,02% были безвредны, а 0,025% и 0,05% угнетали развитие. Мы сочли возможным применить для обеих бактерий концентрацию 0, 015%, как безусловно не токсичную.

Были поставлены опыты с обеими бактериями на МПБ + 0,2% агара. В одну пробирку добавлялось количество краски, угнетающее развитие, в другую то же количество краски + 0,015% $Na_2S_2O_4$. Через 18 часов было учтено размножение клеток. Результаты показаны в табл. 2.

Таблица 2

Влияние гидросульфита Na на токсичность rH_2-индикаторов

Краска	Bac. sporogenes			Bac. putrificus		
	Краска в мл 0,5%-ного раствора на 10 мл среды	$Na_2S_2O_4$ в %	Клетки в млн/мл	Краска в мл 0,5%-ного раствора на 10 мл среды	$Na_2S_2O_4$ в %	Рост
Контроль (без краски) . . .	—	—	210	—	—	+
Нейтральная красная . . .	1,5	—	146	0,7	—	—
	1,5	0,015	201	0,7	0,015	+
Янус зеленый	0,5	—	7,8	0,5	—	—
	0,5	0,015	150	0,5	0,015	+
Феносафранин	1,2	—	10	0,7	—	—
	1,2	0,015	10	0,7	0,015	+
Индиго-дисульфонат . . .	2,5	—	—	2,0	—	—
	2,5	0,015	150	2,0	0,015	+
Индиго-тетрасульфонат . .	2,5	—	46	2,0	—	—
	2,5	0,015	145	2,0	0,015	+
Метиленовая синяя	1,5	—	9.7	1,0	—	—
	1,5	0,015	208	1,0	0,015	+

В опыте с Bac. putrificus клетки не просчитывались, развитие обнаруживалось по мутности и отмечалось знаком +, отсутствие развития отмечалось знаком —. Из данных табл. 2 можно видеть, что добавление восстановителя — гидросульфита снимает угнетающее действие почти всех красок. Только феносафранин остается токсичным для Bac. sporogenes в присутствии гидросульфита. Очевидно, что в данном случае краска оказалась токсичной сама по себе.

Эти опыты показали следующее: развитие вегетативных клеток Bac. sporogenes задерживается янусом зеленым. Эта краска забуферивает rH_2 на 5. Следовательно, эта бактерия может развиваться только при rH_2 не выше 5. Нейтральная красная допускает развитие Bac. sporogenes, но немного задерживает его. Следовательно, при $rH_2 = 3$ развитие вполне возможно. Bac. putrificus оказался еще более анаэробным. Он не развивается в присутствии нейтральной красной. Следовательно, $rH_2 = 3$ уже слишком высок для этой бактерии.

Действие других восстановителей оказалось совершенно аналогично действию гидросульфита.

В табл. 3 приведены данные о количестве клеток Bac. sporogenes и Bac. putrificus при добавлении в среду зеленого януса и нейтральной красной и тех же красок + водород или аскорбиновая кислота.

Водород получался методом электролиза в самой среде и выделялся на электроде, погруженном в среду.

Таблица 3

Влияние красок и восстановителей на рост анаэробов

Краска	Bac. sporogenes	Bac. putrificus
	колич. клеток в млн/мл	колич. клеток в млн/мл
Нейтральная красная .	—	19,8
Нейтральная красная+H_2	—	49,6
Контроль (без краски) .	—	138,0
Янус зеленый	7,8	7,4
Янус зеленый + H_2 . .	49,6	172
Контроль (без краски) .	76,8	139
Янус зеленый	84	12,4
Янус зеленый + аскорбиновая к-та	168	99
Контроль (без краски) .	116	109

Таким образом, можно считать установленным, что гнилостные анаэробы способны к активному вегетативному размножению только при исключительно низких rH_2, не выше 3—5.

Морфологические особенности анаэробов при изменении rH_2 среды

Интересно было выяснить, что́ же происходит с клетками в тот период, пока в среде происходит снижение rH_2 от исходного, довольно высокого значения, и до того, когда rH_2 устанавливается на низком уровне, допускающем размножение. Мы провели морфологические наблюдения над клетками в первые 2—3 часа после посева. Оказалось, что внесенная суточная культура претерпевает существенные изменения. Клетки начинают значительно увеличиваться в размерах, особенно в длину, не делятся. Как только rH_2 снижается до определенного значения — начинается массовое деление клеток. Длинные нити, разделившись сразу во многих местах, превращаются в цепочку нормальных клеток, которые затем расходятся, и мы видим обычную картину суточной культуры, состоящей из отдельных подвижных клеток. Микроскопическая картина дана схематически на рисунке по ходу изменения rH_2 и количества клеток. Соотношение размеров клеток дано на основании зарисовок при помощи рисовального аппарата.

Таким образом, попав в свежую среду с высоким rH_2, клетки оказываются неспособными к размножению. Однако они выделяют редуцирующие вещества, снижающие rH_2, а сами тем временем увеличиваются в размере, но не делятся. Деление происходит только при низком rH_2.

Верхний предел rH_2 для развития анаэробов

В среде тотчас после засева rH_2 бывает около 22. При этом бактерии начинают развитие; следовательно, эта величина еще не является верхним пределом, и развитие может происходить в этих условиях. Чтобы создать в среде еще более высокий rH_2, мы добавили $K_4Fe(CN)_6$, $K_3Fe(CN)_6$ и $Na_2S_2O_3$. Эти вещества задерживали рост только в определенной концентрации (табл. 4).

Таблица 4

Концентрации $K_4Fe(CN)_6$, $K_3Fe(CN)_6$ и $Na_2S_2O_3$, задерживающие рост анаэробов

Условия опыта	Колич. окислителей, добавленных к культурам, в %		rH_2	Рост
	Bac. sporogenes	Bac. putrificus		
Стерильная среда в пробирке	—	—	21,6	Есть
Стерильная среда слоем 5 мм + $+K_4Fe(CN)_6$	0,02	0,015	24,7	Нет
Стерильная среда слоем 5 мм + $+K_3Fe(CN)_6$	0,02	0,015	25,8	„
Стерильная среда слоем 5 мм + $+Na_2S_2O_3$	0,02	0,015	23,8	„

Добавление 0,015% гидросульфита снимает задерживающее действие $K_4Fe(CN)_6$ и $Na_2S_2O_3$ и не снимает действия $K_3Fe(CN)_6$. Таким образом, rH_2 23,8 является уже чересчур высоким, а при rH_2 21,6 развитие еще возможно.

Выделение бактериями редуцирующих веществ

rH_2 в активно размножающейся культуре снижен. Поэтому, внося в свежую среду посевной материал, мы вносим восстанавливающие вещества. Для выяснения роли редуцирующих веществ, выделяемых в среду, мы поставили опыты с отмытыми клетками. Суточная культура Bac. sporogenes на МПБ + 0,2% агара была отцентрифугирована 15 минут при 13 000 об/мин и дважды промыта 1%-ным NaCl. Отмытая суспензия была посеяна, как обычно, из расчета 15—20 млн. клеток на 1 мл среды. Было прослежено изменение rH_2 и динамика размножения. Характер получения кривых ничем не отличался от кривых, получаемых при обычном посеве суточной культуры с тем же количеством клеток. Через 3 часа rH_2 в среде падает до 3—4, и после этого начинается размножение. Так же наблюдается стадия гигантских клеток. rH_2 культуральной жидкости, отцентрифугированной от посевного материала через 1,5 часа после центрифугирования, равнялся 18 и через 7 часов достиг 22. Очевидно, в ней не содержалось значительных количеств редуцирующих веществ.

Этот опыт свидетельствует о следующем. Редуцирующей способностью обладает не столько культуральная жидкость, сколько живые клетки, находящиеся в активном состоянии. Отцентрифугированные молодые клетки, лишенные культуральной жидкости, в которой они выросли, не страдают от этого и, будучи помещены в благоприятную среду, выделяют редуцирующие вещества и нормально размножаются.

О природе редуцирующих веществ, выделяемых анаэробами, ничего не известно. Куостель и Стефенсон [13] полагают, что это вещества с SH-группой. Обель и сотр. [4] считают, что это водород. Какова бы ни была химическая природа этих веществ, биологический смысл их образования ясен: это приспособление для создания среды, необходимой для развития. Анаэробы в природе едва ли дожидаются, когда они попадут в подходящие для них условия с низким rH_2. Они сами создают для себя соответствующие окислительно-восстановительные условия, выделяя мощные восстановители.

Влияние rH_2 на прорастание спор

Чтобы проследить зависимость развития спор от rH_2 среды, была приготовлена суспензия спор. Месячные культуры Bac. sporogenes и Bac.

putrificus были пропастеризованы для освобождения от вегетативных клеток. Bac. sporogenes пастеризовался 2—3 минуты при 100°. Споры Bac. putrificus менее устойчивы, их можно пастеризовать только при 75° 4—5 минут. При засеве МПБ + 0,2% агара пастеризованными спорами Bac. sporogenes и Bac. putrificus появление вегетативных клеток наблюдается уже через 3 часа, а через 9—12 часов количество вегетативных клеток достигает максимума. Затем начинается процесс спорообразования. Однако при засеве спорами часто наблюдаются задержки в развитии на несколько часов, чего никогда не наблюдается при посеве вегетативных клеток в том же количестве 15—20 млн/мл.

Таблица 5

Развитие культур Bac. sporogenes из спор при различном rH_2

Среда	Начальный rH_2 (после посева)	Развитие через 24 часа
МПБ+0,2% агара . .	23,0	—
То же + 0,005% $Na_2S_2O_4$	21,8	—
То же+0,010% $Na_2S_2O_4$	20,8	+
То же + 0,0125% $Na_2S_2O_4$	20,4	+
То же + 0,015% $Na_2S_2O_4$	14,3	+

Чтобы проследить, при каком начальном rH_2 среды происходит прорастание спор, были приготовлены среды с различным значением rH_2. Результаты приведены в табл. 5.

Предел rH_2 для прорастания спор оказался немного ниже, чем для развития вегетативных клеток. При $rH_2 = 21{,}8$ прорастания нет, при 20,8 через 24 часа наблюдается нормальное развитие культуры.

На препаратах, приготовляемых каждый час по ходу развития культуры Bac. sporogenes из спор, можно проследить все стадии прорастания и сопоставить их с rH_2 среды. Сперва споры, внесенные в качестве посевного материала не окрашиваются генциан-виолетом в тех условиях, в каких окрашиваются вегетативные клетки, т. е. в течение одной минуты без нагревания через 1—2 часа инкубации споры начинают окрашиваться, но пока еще не меняют ни формы, ни размеров. Затем они начинают увеличиваться и достигают величины гигантских клеток, характерных для лаг-фазы при развитии вегетативных клеток. При этом происходит падение rH_2. При достижении уровня rH_2 равного 3—5 начинается деление вегетативных клеток.

Выводы

1. Гнилостные анаэробы Bac. sporogenes и Bac. putrificus могут развиваться в бульоне при доступе воздуха, если он налит в пробирки слоем 5—6 см и к нему добавлено 0,2% агара для повышения вязкости среды.

2. При развитии культуры исходный rH_2 20—22 снижается до 1—2 и остается на этом уровне, не изменяясь до тех пор, пока не прекратится жизнедеятельность культуры. В период наиболее интенсивного падения rH_2, т. е. в самые первые часы развития культуры, размножения клеток не происходит, но клетки растут главным образом в длину, образуя длинные нити. Только после установления в среде крайне восстановительных условий клетки приступают к делению. Длинные нити распадаются на клетки обычной величины и наступает фаза логарифмического роста.

3. Если удержать rH_2 в среде на более высоком уровне, добавив окислители — rH_2-индикаторы, то размножения культуры не происходит. Уровень rH_2, ограничивающий размножение Bac. sporogenes, лежит около 5, а Bac. putrificus — около 3. Таким образом, размножение клеток облигатных анаэробов возможно только в крайне восстановленных условиях, которые создаются самими бактериями.

4. rH_2-индикаторы, «оттитрованные» восстановителями, гидросульфитом или аскорбиновой кислотой, не препятствуют размножению бактерий. Это свидетельствует о том, что не краски сами по себе, а именно созда-

ваемый ими окислительно-восстановительный потенциал является препятствием для развития.

5. Анаэробные бактерии оказались в состоянии преодолеть относительно высокий начальный rH_2 среды — 20—22. При засеве 10—20 млн/мл только при rH_2 равном 23—24 культура не развивается.

6. При посеве отмытой суспензии не наблюдается задержки роста по сравнению с посевом активной суточной культуры, в которой бактерии снизили rH_2, т. е. накопили редуцирующие вещества. Таким образом, редуцирующей способностью обладает не столько культуральная жидкость, сколько сами живые клетки, находящиеся в активном состоянии.

7. Прорастание спор возможно при $rH_2 = 20{,}8$, при 21,8 оно задерживается. Прорастание спор Bac. sporogenes происходит следующим образом: спора, не окрашивающаяся сначала обычным способом на холоду, через 1—2 часа начинает окрашиваться так же, как и обычные вегетативные клетки, а затем начинает увеличиваться в размере, проходя стадию гигантизма, характерную для вегетативных клеток. При $rH_2 = 3$—5 гигантские клетки делятся.

Биолого-почвенный факультет
Московского государственного
университета им М. В. Ломоносова

Получено 20. II. 1955 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Энгельгардт В. А. О взаимоотношении дыхания и брожения. Усп. совр. биологии, XVII, вып. 3, 1944.
2. Aubel E., Aubertin E. Sur le potentiel d'oxydo-réduction des milieux où croissent les anaérobies stricts et les anaérobies facultatifs. C. R. Soc. Biol., **97**, 1729, 1927.
3. Aubel E., Aubertin E., Genevois L. Sur le potentiel d'oxydo-reduction de la levure, des anaérobies facultatifs, des anaérobies stricts et de milieux où vivent ces organismes. Ann. Phys. et Physicochim. Biol., **5**, 1, 1929.
4. Aubel E., Rosenberg A., Grünberg M. Study of oxydo-reduction potential. Limit of growth of the anaerobic bacteria. Helv. Chim. Acta, **29**, 1267, 1946.
5. Hanke M., Katz I. An electrolytic method for controlling ox-red potential and its application in the study of anaerobiosis. Arch. Biochem., 2, No. 2, 183, 1943.
6. Kligler I., Guggenheim K. The influence of vitamin C on the growth of anaerobes in the presence of air, with special reference to the relative significance of rH and O_2 in the growth of anaerobes. J. Bact., **35**, 141, 1937.
7. Knight P., Filds B. Ox-red studies in relation to bacterial growth. III. The positive limit of oxidation-reduction potential required for the germination of B. tetani spore in vitro. Bioch. J., **24**, 1496, 1930.
8. McLeod J., Gordon J. The problem of intolerance of oxygen by anaerobic bacteria.
9. McLeod J. a. Gordon J. Catalase production and sensitiveness to hydrogen peroxide amongst bacteria with a scheme of classification based on these properties. J. Path. a. Bacter., **26**, No. 3, 236, 1923.
10. McLeod J., Gordon J. Further indirect evidence that anaerobes tend to produce peroxide in the presence of oxygen. J. Path. a. Bacter., **28**, No. 2, 147, 1925.
11. McLeod J., Gordon J. The relations between the reducing powers of bacteria and their capacity for forming peroxide, J. Path. a. Bacter., **28**, No. 2, 155, 1925.
12. Prévot A. Role of the oxidation-reduction potential in the mode of growth of bacteria in deep agar. C. R. Soc. Biol., **127**, 489, 1938.
13. Quastel J., Stephenson M. The relationship of B. sporogenes to oxygen. Bioch. J., **20**, 1125, 1926.
14. Sherman I. The production of catalase by an anaerobic organism. J. Bact., **11**, 417, 1926.
15. Vennesland B., Hanke M. The oxidation-reduction potential requirement of a non-spore forming obligate anaerobe. J. Bact., **39**, No. 2, 139, 1940.

ДЕЙСТВИЕ АМИНОКИСЛОТ — ПОДАВИТЕЛЕЙ ФАГА НА ОБМЕН ФОСФОРА В БАКТЕРИАЛЬНОЙ КЛЕТКЕ

Н. В. Чебуркина и Н. К. Марченко

В последние годы широко развиваются исследования по изучению физиологических условий размножения вирусов путем подавления ферментативных систем восприимчивой клетки. Использование подавителей различных ферментативных систем и изучение их действия на макроорганизм и инфицирующие его вирусы позволяют расшифровать механизм размножения вирусов в клетке и влияние этого размножения на течение процессов клеточного обмена.

В результате исследований, проведенных методом подавителей, установлена известная автономность размножения вирусов, отличие требуемых ими условий от условий, необходимых для жизнедеятельности макроорганизма [6, 7]. Получены также некоторые данные о наличии общих свойств у фитопатогенных и более высоко организованных вирусов, размножение которых может угнетаться одними и теми же веществами, действующими, повидимому, на наиболее общие, свойственные различным организмам, процессы [8, 10, 12, 16, 17].

К числу разнообразных групп веществ, способных подавлять размножение различных вирусов, принадлежат и некоторые аминокислоты, среди которых особое место занимает глютаминовая кислота, не только как подавитель размножения ряда вирусов и патогенных микробов, но и как вещество, принимающее участие в обмене грамположительных бактерий. Дезаминирование аминокислот в бактериальной клетке приводит к образованию аммиака, который является главным источником азота, необходимого для роста бактерий. Однако многие грамположительные бактерии утратили способность синтезировать аминокислоты и в качестве источника N, C и H используют некоторые аминокислоты среды, которые они способны усваивать и накапливать в свободном состоянии внутри клеток [4, 13].

По данным Геля (Gale [18]), глютаминовая кислота, накапливающаяся внутри клеток Staph. aureus и Str. faecalis, проникает в них из среды не путем простой диффузии, а путем активного переноса с использованием энергии энергетических процессов (в эксперименте — энергии брожения). Накопление свободной глютаминовой кислоты и образование ее солей внутри клеток Staph. aureus может полностью или частично угнетаться некоторыми ингибиторами и антибиотиками, в числе которых можно назвать азид натрия, динитрофенол, стрептомицин, пенициллин и др. [19].

Способность глютаминовой кислоты подавлять размножение различных вирусов отмечается отдельными авторами, установившими подавление вируса табачной мозаики [9], вируса гриппа [5], вируса желтухи тутового шелкопряда [14] и вируса чумы плотоядных [15].

Исследованиями Рыжкова и Марченко [11] показано, что глютаминовая кислота, цистеин и некоторые другие аминокислоты в концентрации 0,1% подавляют фаголизис и размножение фага молочнокислого стрептококка и фага золотистого стафилококка. Одновременно авторы наблюдали незначительное, в сравнении с фагом, влияние аминокислот-подавителей на размножение бактерий. Эти же авторы показали, что действие аминокислот на фаголизис и размножение фага может быть снято веществами, содержащими лабильные метильные группы (метионин, холин, бетаин) или формильные радикалы (муравьинокислый натрий). Полученный эффект снятия позволил авторам высказать предположение, что механизм действия аминокислот на фаг связан с подавлением пуринового и пиримидинового синтеза в клетке.

Ввиду сказанного представляет интерес более детальное изучение условий подавления вирусов аминокислотами в клетках макроорганизма, тем более, что эти аминокислоты могут быть использованы как терапевтические средства.

Мы испытывали на модели молочнокислого стрептококка действие аминокислот — подавителей фага на обмен фосфора в бактериальной клетке, роль которого в нуклеиновом обмене бактерий и вирусов очень велика.

В работе использовались следующие методы исследования: 1) метод меченых атомов для учета изменений в обмене бактериальных фосфатов [1, 2, 3], 2) метод количественного определения фосфора по Фиске — Суббароу, 3) микроскопический метод Брида для подсчета бактериальных клеток, 4) метод количественного фракционирования тканевых фосфатов Шнейдера (Schneider [20]).

Экспериментальная часть

1. Исследования покоящихся клеток

Молочнокислый стрептококк выращивался на жидкой и, в отдельных случаях, на плотной питательной среде. Бактериальная культура засевалась на мясопептонный бульон с добавлением 1% глюкозы (pH = 7,1) или на 3%-ный мясопептонный агар с добавлением 1% глюкозы (pH = 7,1) и инкубировалась при +28° 18 часов.

В бактериальную взвесь (с агара бактерии смывались мясопептонным бульоном), вносился радиоизотоп фосфора (раствор радиоактивного Na_2HPO_4) из расчета 0,2 или 0,3 μCu на 1 мл взвеси. Взвесь делилась на две равные части, в одну из которых вносилась аминокислота в концентрации 0,1%. Опытная и контрольная взвеси вторично инкубировались при + 28° 15, 30 или 60 минут. В этой стадии опыта бактерии находятся, повидимому, в покоящемся состоянии, так как ни в опытной, ни в контрольной взвеси за время вторичной инкубации не наблюдается заметного роста клеток. Далее бактериальные клетки отделялись от бульона, промывались пять-шесть раз физиологическим раствором (до полного удаления свободного радиофосфора), убивались ацетоном и взвешивались в 1 или 2 мл дестиллированной воды.

Включение P^{32} в фосфаты бактериальной клетки регистрировалось подсчетом импульсов в определенном объеме (всегда в 0,1 мл) этой взвеси при помощи счетчика Гейгера — Мюллера. Определение общего фосфора и подсчет микробных клеток производились в отдельных пробах из этой же взвеси.

Вначале было испытано действие трех аминокислот: глютаминовой кислоты, цистеина и аланина.

Таблица 1

Влияние аминокислот на содержание P^{32} в бактериальной клетке
(в импульсах в 1 минуту на 10 млн. бактерий)*

Аминокислоты, добавленные к бактериальной взвеси	Время инкубации с аминокислотой					
	15 мин.		30 мин.		60 мин.	
	Опыт	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт	Контроль
Аланин	—	—	191	188	214	211
	—	—	338	303	—	—
Цистеин	170	355	223	335	186	533
	4215	11 611	1578	3321	1919	2882
	—	—	153	188	—	—
	—	—	466	1100	—	—
Глютаминовая кислота	337	620	405	1206	214	626
	385	621	271	510	165	344
	—	—	99	335	70	533
	—	—	632	1034	—	—
	—	—	656	852	—	—

* Приводятся данные отдельных опытов.

Изменения в процессах фосфорного обмена молочнокислого стрептококка учитывались по интенсивности поступления P^{32} в клетки. Оказалось, что аланин, который не является подавителем размножения фага, не влияет на включение P^{32} в бактериальные клетки. Напротив, аминокислоты — подавители фага постоянно задерживали, в условиях наших опытов, включение P^{32} в клетки молочнокислого стрептококка (табл. 1).

Из табл. 1 видно, что во всех опытах глютаминовая кислота и цистеин значительно подавляли включение радиоактивного фосфора в клетки молочнокислого стрептококка, в то время как аланин не оказывал влияния на включение.

Все последующие опыты проводились только с глютаминовой кислотой, и пересчеты велись не только на количество бактериальных клеток, но и на сухое вещество (табл. 2).

Таблица 2

Влияние глютаминовой кислоты на содержание P^{32} в бактериальной клетке (время инкубации — 30 минут)*

Условия опыта	Сухое вещество в мг	Импульсы на 1 мг сухой бактериальной массы	Колич. микробных тел в 1 мл взвеси	Импульсы на 10 млн бактерий	Общий фосфор в мг на 1 г сухого вещества
Бактериальная взвесь + глютаминовая кислота	37,0	1347	46 464 110	1990	20,95
	60,7	245	50 156 880	550	—
	59,1	704	39 594 020	2130	—
	124,0	391	237 600 000	1099	15,30
	41,0	103	101 851 200	415	15,90
Бактериальная взвесь (контроль)	37,3	2555	41 924 940	4300	20,81
	69,2	302	54 924 740	683	—
	74,8	927	36 594 020	3839	—
	168,8	456	280 720 000	1426	14,80
	38,0	131	130 996 800	379	15,80

* Приводятся данные отдельных опытов.

Данные табл. 2 подтверждают постоянство действия глютаминовой кислоты на включение P^{32} в бактериальные клетки. Различий в содержании общего стабильного фосфора между опытом и контролем не обнаружено.

На основании различной интенсивности включения P^{32} в бактериальные клетки в опыте и в контроле можно считать, что скорость фосфорного обмена в опыте подавляется аминокислотами — подавителями фага.

2. Исследования растущих клеток

В этой части работы испытывалось действие глютаминовой кислоты на обмен фосфора в бактериальных клетках, находящихся в стадии наиболее активного своего роста, а не в стадии покоя, как это проводилось выше. Кроме того, путем фракционирования фосфорных соединений клетки изучалось действие глютаминовой кислоты на обмен отдельных групп фосфатов бактерий, общее содержание которых (данные по стабильному фосфору) в опыте существенно не отличается от контроля.

Молочнокислый стрептококк выращивался на жидкой питательной среде (см. выше). Одновременно с посевом бактериальной культуры в среду вносился радиоизотоп фосфора из расчета 0,2 μCu на 1 мл бульона

и глютаминовая кислота в концентрации 0,1%. Опытная и контрольная (без глютаминовой кислоты) культуры инкубировались при + 28° 2, 3 и 4 часа — время наиболее активного роста молочнокислого стрептококка, после чего обработка, подсчет бактериальных клеток и регистрация включения в них P^{32} производились, как уже описывалось выше (табл. 3).

Таблица 3

Влияние глютаминовой кислоты на содержание P^{32} в растущей бактериальной клетке*

Условия опыта	Время роста бактерий и инкубации с аминокислотой в часах	Количество миллиграммов сухого вещества в 1 мл бактериальной взвеси	P^{32} в импульсах на 1 мг сухих бактерий	Количество микробных тел в 1 мл взвеси	P^{32} в импульсах на 100 млн. бактерий
Бактериальная взвесь + глютаминовая кислота	2	5,6	344	1 619 200 000	115
		8,5	313	721 600 000	368
		9,9	221	2 506 240 000	87,7
		7,4	171	—	—
	3	7,0	391	1 524 160 000	179
		9,1	283	3 520 000 000	73,5
		11,8	304	—	—
	4	13,5	455	2 611 840 000	235
		11,0	515	4 794 240 000	118
		10,8	314	7 772 160 000	43,6
		17,0	322	—	—
Бактериальная взвесь (контроль)	2	7,1	415	2 171 840 000	135
		8,6	343	675 840 000	436
		20,7	405	3 041 280 000	275
		16,3	392	—	—
	3	14,4	588	2 351 360 000	392
		19,9	429	7 427 200 000	114
		26,9	420	—	—
	4	19,8	460	3 245 440 000	280
		14,5	585	4 899 840 000	173
		23,7	428	11 510 960 000	88,1
		32,3	439	—	—

*Приводятся данные отдельных опытов.

Данные, представленные в табл. 3, позволяют еще раз убедиться в постоянстве подавляющего действия глютаминовой кислоты на фосфорный обмен молочнокислого стрептококка. В условиях активного роста бактерий, хотя и замедленного в присутствии глютаминовой кислоты, интенсивность включения радиоактивного фосфора в бактериальные клетки в опыте заметно отстает от контроля, что указывает на понижение скорости фосфорного обмена.

Далее мы попытались выяснить действие глютаминовой кислоты — подавителя фага на направление и скорость обмена отдельных групп фосфорсодержащих веществ бактериальной клетки. С этой целью фосфаты покоящихся и растущих бактерий подвергались фракционированию по методу Шнейдера. Для опыта с покоящимися бактериями бактериальная культура засевалась на плотной питательной среде, инкубировалась при 28° 18 часов, смывалась с агара бульоном и вторично инкубировалась при 28° 30 минут в присутствии радиоизотопа фосфора (0,3 μCu на 1 мл

Таблица 4

Включение P^{32} в отдельные группы фосфатов бактериальной клетки в присутствии глютаминовой кислоты*

Состояние клеток	Условия опыта	Время инкубации с аминокислотой	Количество микробных клеток в 1 мл взвеси	Общий фосфор			Растворимый фосфор			Нерастворимый фосфор		
				Импульсы на 1 г сухих бактерий	Импульсы на 10 млн. бактерий	P_{31} в мг на 1 г сухих бактерий	Импульсы на 1 г сухих бактерий	Импульсы на 10 млн. бактерий	P_{31} в мг на 1 г сухих бактерий	Импульсы на 1 г сухих бактерий	Импульсы на 10 млн. бактерий	P_{31} в мг на 1 г сухих бактерий
Стадия покоя	Контроль**	30 мин.	—	12 527	—	12,70	9 670	—	3,77	Интенсивность излучения равна фону		—
	Контроль + глютаминовая кислота	30 „	—	8 888	—	12,50	7 407	—	3,56			—
	Контроль	30 „	130 996 800	130 632	379	15,80	130 632	189	4,00	Интенсивность излучения равна фону		7,76
	Контроль + глютаминовая кислота	30 „	101 851 200	103 219	415	15,90	101 103	184	3,75			7,62
Стадия роста	Контроль	18 час.	561 440 000	456 137	686	14,80	87 192	131	4,08	259 478	390	8,75
	Контроль + глютаминовая кислота	18 „	475 200 000	390 758	510	15,30	86 669	113	4,25	236 129	308	8,28
	Контроль	18 „	399 520 000	275 714	338	28,58	62 223	76	7,98	164 285	201	20,70
	Контроль + глютаминовая кислота	18 „	326 720 000	261 325	289	29,70	50 911	56	5,28	164 548	182	16,26
	Контроль	18 „	353 760 000	310 350	500	33,80	66 666	107	7,01	187 894	302	22,53
	Контроль + глютаминовая кислота	18 „	330 880 000	311 737	401	34,36	83 568	107	8,69	204 929	263	22,85

* Приводятся данные отдельных опытов.
** Контролем служила бактериальная взвесь без добавлений.

взвеси) и глютаминовой кислоты (в концентрации 0,1%). В опыте с растущими бактериями бактериальная культура засевалась на жидкую питательную среду и инкубировалась при 28° 18 часов в присутствии радиоизотопа фосфора (0,3 μCu на 1 мл бульона) и глютаминовой кислоты (в концентрации 0,1%). Полученная тем или другим способом бактериальная взвесь отмывалась от среды и свободного радиофосфора, бактерии убивались ацетоном и обрабатывались трихлоруксусной кислотой.

Отдельные фракции растворимых и нерастворимых фосфатов анализировались на присутствие радиоактивного и стабильного фосфора; нерастворимая фракция предварительно обрабатывалась горячей спиртоэфирной смесью (3 : 1) (табл. 4).

Интересно, что в покоящихся бактериях радиоизотоп фосфора включался как в опыте, так и в контроле, только во фракцию растворимых фосфатов и полностью отсутствовал во фракции нерастворимых веществ, куда входят нуклеопротеиды клетки. С другой стороны, при фракционировании растущих бактерий мы обнаружили, что за 18 часов роста основная масса радиофосфора включалась во фракцию нерастворимых фосфатов опытных и контрольных клеток, что свидетельствует о большой скорости и интенсивности обмена нуклеопротеидов растущих бактерий. В свою очередь отсутствие P^{32} в нерастворимой фракции покоящихся бактерий указывает на значительное подавление процессов жизнедеятельности клетки, в которых обмену нуклеопротеидов принадлежит исключительно важная роль.

Что касается действия глютаминовой кислоты на обмен отдельных групп фосфорсодержащих веществ, то почти во всех опытах наблюдалась задержка включения P^{32} в растворимые фосфаты и небольшая задержка включения P^{32} в нерастворимые фосфаты активно растущих бактерий. Отсутствие существенных колебаний в содержании стабильного фосфора (P^{31}) позволяет предполагать, что количественных изменений межмолекулярного обмена фосфатов бактериальной клетки глютаминовая кислота не вызывает.

На основании проведенных опытов имеются основания говорить, что аминокислоты — подавители размножения фага задерживают скорость внутримолекулярного обмена фосфатов бактериальной клетки, что удалось установить при помощи метода меченых атомов. Известно, что меченые атомы, включаясь в состав отдельных групп веществ организма, испытывают в обменных процессах последнего такие же химические и биологические превращения, как и соответствующие естественные элементы клетки, и задержка включения P^{32} в бактерии указывает прежде всего на подавление скорости обмена органического фосфора у последних.

Авторы выражают благодарность профессору В. Л. Рыжкову за руководство при выполнении настоящей работы.

Выводы

1. Аминокислоты — подавители размножения фага (глютаминовая кислота и цистеин) понижают скорость фосфорного обмена в покоящихся и активно растущих клетках молочнокислого стрептококка.

2. Аланин — аминокислота, не подавляющая размножение фага, не изменяет скорость обмена фосфора в покоящихся клетках молочнокислого стрептококка.

3. Глютаминовая кислота понижает, почти во всех опытах, скорость обмена растворимых фосфатов и, в отдельных опытах, скорость обмена нерастворимых фосфатов активно растущих клеток молочнокислого стрептококка.

4. Подавление размножения фага аминокислотами-подавителями свя-

зано, повидимому, с нарушением ими процессов обмена в бактериальной клетке.

Институт вирусологии
им. Д. И. Ивановского АМН СССР
Москва

Получено 23. III. 1955 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Дробков А. А. Биологическая роль естественных радиоактивных элементов. Усп. совр. биологии, **31**, вып. 1, 82, 1951.
2. Камен М. Радиоактивные индикаторы в биологии, Изд-во иностр. лит-ры, М., 1948.
3. Коникова А. С. и Крицман М. Г. Применение метода меченых атомов в микробиологии. Микробиология, XX, вып. 1, 58, 1951.
4. Крицман М. Г. и Коникова А. С. Синтез аминокислот в животном организме и бактериальной клетке. Усп. биол. химии (ежегодник), 1950.
5. Лутикова О. Т. Влияние различных веществ на размножение вируса гриппа типа А в деэмбрионированных яйцах. Проблемы общей вирусологии — тезисы докладов 6-й научной сессии Института вирусологии им. Д. И. Ивановского АМН СССР, стр. 10, 1953. ,
6. Рыжков В. Л. Пути химиотерапии вирусных инфекций. Сборник научных статей «Новости медицины», вып. 4: «Вирусные болезни», 1947.
7. Рыжков В. Л. Изучение мозаичной болезни табака в СССР от Д. И. Ивановского до наших дней. Микробиология, XIX, вып. 4, 489, 1950.
8. Рыжков В. Л. Некоторые закономерности действия подавителей вирусов и фагов, ДАН СССР, н. сер., LXXIII, № 5, 1049, 1950.
9. Рыжков В. Л. Влияние аминокислот и близких к ним соединений на репродукцию вируса табачной мозаики. ДАН СССР, LXXX, № 4, 677, 1951.
10. Рыжков В. Л. и Марченко Н. К. Влияние ингибиторов нуклеинового обмена на размножение вируса мозаичной болезни табака (В. Т. М.). ДАН СССР, н. сер., LXXXVI, № 3, 637, 1952.
11. Рыжков В. Л. и Марченко Н. К. Подавление фага некоторыми аминокислотами. ДАН СССР, XCI, № 6, 1389, 1953.
12. Рыжков В. Л. и Семич А. И. О подавлении бактериальных вирусов (бактериофага) некоторыми веществами. Бюлл. эксперим. биол. и мед., **24**, № 10, вып. 4, 1947.
13. Стефенсон М. Метаболизм бактерий, Изд-во иностр. лит-ры, М., 1951.
14. Тарасевич Л. М. Некоторые подавители вируса желтухи шелкопряда. Проблемы общей вирусологии — тезисы докладов 6-й научной сессии Института вирусологии им. Д. И. Ивановского АМН СССР, стр. 13, 1953.
15. Черкасский Е. С. и Сорина С. Е. Действие некоторых аминокислот, акридиновых и других препаратов на размножение вируса чумы плотоядных в куриных эмбрионах. ДАН СССР, н. сер., LXXXVII, № 3, 489, 1952.
16. Fitzgerald R. a. Babbitt B. The effect of certain compounds on the lysis of Escherichia coli by bacteriophage. J. Immunol., **52**, No. 2, 121, 1946.
17. Fitzgerald R. a. Lee M. Observations on the mode of action of acridinesin inhibiting lysis of virus-infected bacteria. J. Immunol., **52**, No. 2, 127, 1946.
18. Gale E. F. The assimilation of amino-acids by bacteria. Biochem. J., 48, No. 3, 286, 1951.
19. Gale E. F. a. Paine T. F. The action of inhibitors and antibiotics of the accumulation of free glutamic acid and the formation of combined glutamate in Staphylococcus aureus. Biochem. J., 48, No. 3, 298, 1951.
20. Schneider W. A composition of methods for the estimation of nucleic acids. J. Biol. Chem., **164**, No. 2, 747, 1946.

БЕСКЛЕТОЧНАЯ НИТРИФИКАЦИЯ

III. О ДИНАМИКЕ НАКОПЛЕНИЯ НИТРИТОВ

А. А. Имшенецкий, Е. Л. Рубан и О. Д. Бузина

В предыдущих сообщениях [1, 2] были приведены экспериментальные данные о том, что бесклеточные автолизаты клеток Nitrosomonas вызывают окисление аммиака. Автолизаты сами содержат довольно значительные количества аммиака, и поэтому часть опытов была проведена без дополнительного внесения в автолизат сернокислого аммония. В этих случаях аммиак обычно полностью окислялся. При добавлении к бесклеточным автолизатам раствора сернокислого аммония также наблюдалось окисление аммиака, но он полностью не исчезал. Эти данные и результаты аналогичных опытов с бесклеточными автолизатами, полученными из культур гетеротрофных бактерий, убедили нас в том, что в автолизатах существовал аммиак различного происхождения: 1) содержащийся в исходном автолизате; 2) образующийся дополнительно в течение пяти дней стояния автолизатов в результате происходящего дезаминирования; 3) аммиак, вносимый в виде солей аммония. Естественно, что ферментативные окислительные системы, содержащиеся в автолизатах, не достаточно активны, чтобы окислить значительное количество аммиака. В ранее опубликованном сообщении обращал на себя внимание тот факт, что количество образовавшихся нитритов гораздо меньше, чем количество окисленного азота аммиака. В связи с этим возникло два предположения. Условия для функционирования ферментной системы, окисляющей аммиак, создаются благоприятные, тогда как для осуществления следующей фазы, т. е. окисления промежуточных продуктов до нитритов, мы не создаем оптимальных условий. Второе объяснение заключалось в том, что мы, стремясь получить достаточно убедительные данные об окислении аммиака, провели большое число опытов, не варьируя их продолжительности, т. е. не получив представления о динамике накопления нитритов. Можно было предполагать, что количество нитритов в менее продолжительных опытах выше, а в дальнейшем падает. В связи с этим задача данной статьи — изложить результаты исследований по динамике накопления нитритов в бесклеточных автолизатах, а также в развивающейся культуре Nitrosomonas различного возраста.

Экспериментальная часть

Выращивание культуры Nitrosomonas в больших объемах жидкости, получение фильтратов и автолизатов производилось при помощи ранее описанных методов [1, 2]. Схема исследований была следующая. К фильтрату автолизата, не содержащего бактериальных клеток как Nitrosomonas, так и посторонних бактерий, добавлялся сернокислый аммоний. Затем, при помощи электрофотоколориметра, определялось количество нитритов с реактивом Грисса. Количество аммиака устанавливалось в колориметре Дюбоско с реактивом Неслера. Применение реактива Гревса для данных концентраций аммиака оказалось менее удобным. В отличие от ранее проводившихся опытов, определение нитритов и аммиака производилось не однократно, а несколько раз на протяжении пяти дней. Результаты этих исследований приведены в табл. 1. Резюмируем эти данные. В семи опытах наблюдалось отчетливое уменьшение аммиака (от

Таблица 1

Изменение количества NH_3 и NO_2 в бесклеточных автолизатах Nitrosomonas (мг/л)

№	Убыль NH_3					Образование NO_2					
	Дни					Исходн.	Дни				
	1	2	3	4	5		1	2	3	4	5
1	24	45	—	—	810	1,6	6,5	6,3	—	—	3,9
2	120	158	176	—	180	1,8	1,37	0,8	0,47	0,34	0,35
3	9	14	103	154	157	1	4,5	4,1	2,2	1,6	0,9
4	12,5	38	80	110	123	2	3	2,3	1,8	1,8	—
5	82	132	132	—	137	2,2	1,8	1,7	1,7	2,2	1,8
6	—	—	—	—	—	3,75	40	17	—	—	8,3
7	5,9	31	41,6	—	55	27,7	30,9	32,7	32	—	30
8	3	5	7	—	8	8	15	8	8	—	5
9	+72	+98	+148	+165	+155	1	1,3	1,2	1	1,5	1
10	0	—	—	—	0	0	0	0	0	0	0

Примечание. В опыте № 9 взят автолизат Mycobacterium rubrum; в опыте № 10 проведено автоклавирование автолизатов.

193 до 810 мг/л за время опыта). Эти наблюдения еще раз подтвердили закономерное окисление аммиака бесклеточными автолизатами клеток, установленное ранее [2]. Что же касается образования NO_2, то эти опыты позволили получить принципиально новые данные. Оказалось, что образование максимального количества нитритов падает не на пятый день, а на более ранние сроки. Так, например, в опыте № 4 на первый день в автолизатах обнаружено 4,5 мг/л NO_2 и на пятый день только 0,9 мг/л.

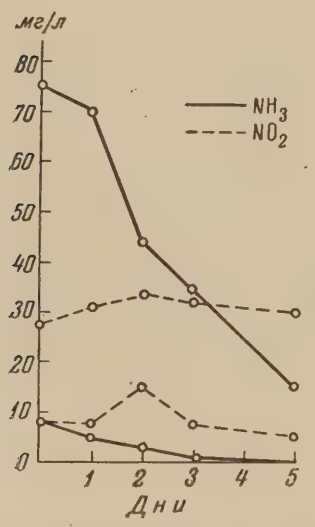


Рис. 1. Изменение количества NH_3 и NO_2 в бесклеточных автолизатах Nitrosomonas europea (кривые по данным двух опытов)

Аналогичная картина наблюдается и в других опытах, причем абсолютные цифры колеблются, но общий вывод о том, что нитриты образуются в большом количестве в первые дни, остается без изменений. В отдельных опытах не наблюдалось увеличения нитритов. Здесь необходимо отметить существенный момент. Растертые клетки в течение суток выдерживают в термостате с целью добиться автолиза их. Естественно, что за это время идет нитрификация клеточная, а главным образом бесклеточная. Следовательно, фактически срок опытов по бесклеточной нитрификации начинается на сутки раньше, чем мы считаем. За эти же сутки образуется уже значительное количество нитритов. Оно особенно велико, если мы учтем, что до того, как клетки были поставлены на автолиз, они тщательно промывались до полного исчезновения даже ничтожных следов нитритов.

Если мы обратимся к рис. 1, на котором для наглядности приведена кривая падения содержания аммиака в среде, то увидим, что количество окисленного аммиака все увеличивается и на четвертый-пятый день достигает своего максимума. Несколько иная картина наблюдается при образовании нитритов. Кривая, изображенная на рис. 1, показывает, что вначале происходит быстрое образование нитритов, оно достигает своего макси-

мума на первый-второй день, а затем кривая падает, так как количество обнаруживаемых нитритов резко уменьшается. Данные эксперименты объясняют, почему в ранее опубликованной работе [2] существовало резкое несоответствие между количествами образовавшихся нитритов и окисленного аммиака. Регистрация опытов тогда осуществлялась на пятый день; этими же опытами показано, что на этот день содержание нит-

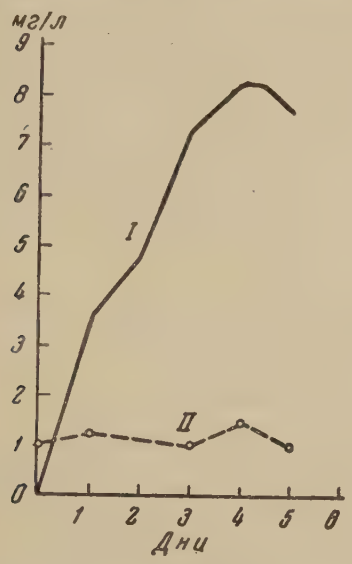


Рис. 2. Изменение количества NH_3 и NO_2 в бесклеточных автолизатах Mycobacterium rubrum

I — накопление NH_3; *II* — образование NO_2

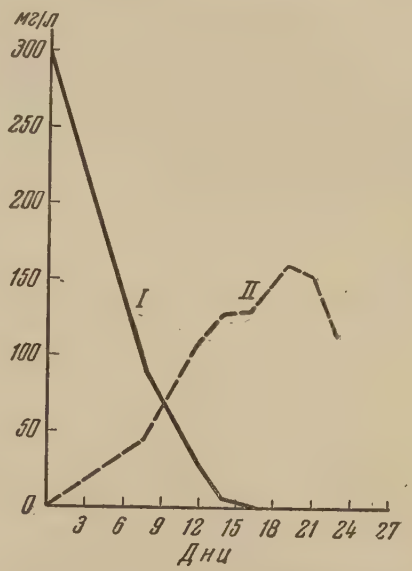


Рис. 3. Изменение количества NH_3 и NO_2 в чистой культуре Nitrosomonas europea

I — потребление NH_3; *II* — образование NO_2

ритов по сравнению с количеством, обнаруженным на первый-второй день, падает.

В задачу этих исследований не входило изучение термостабильности ферментных систем Nitrosomonas, участвующих в окислении аммиака до нитрита. Этому вопросу будет посвящено следующее сообщение. Следует все же отметить, что в качестве контроля и в данных исследованиях был проведен опыт с автоклавированием (10 мин., 121°) фильтрата автолизата. В табл. 1 приведены данные о том, что в этом случае аммиак автолизатами вообще не окислялся. В качестве второго контроля были проведены опыты с бесклеточным автолизатом гетеротрофной бактерии Mycobacterium rubrum. При этом оказалось, что ферменты микобактерии не только не вызывают окисления и, следовательно, уменьшения аммиака, но, наоборот, его количество, повидимому за счет дезаминирования аминокислот, возрастает более чем в два раза, количество же нитритов, содержащееся в среде, остается таким же незначительным, как и в начале опыта (табл. 1, рис. 2).

Естественно возникал вопрос: составляет ли падение количества образующихся нитритов особенность бесклеточных автолизатов или такая же закономерность наблюдается и в культурах Nitrosomonas? С целью выяснить этот вопрос производилось культивирование Nitrosomonas на жидкой среде Виноградского в течение 30 дней при 25°. Через каждые три дня в культуре производилось определение аммиака и нитритов. Таких опытов было проведено девять, и результаты их суммированы в табл. 2 (рис. 3). Мы видим, что окисление аммиака протекает как обычно, и на 27-й день, как правило, он уже полностью окисляется.

Таблица 2

Изменение количества NH_3 и NO_2 в чистой культуре Nitrosomonas (в мг/л)

Первая серия опытов

№	Дни											
	NH_3						NO_2					
	11	15	19	23	27	30	11	15	19	23	27	30
1	63	22,3	9,1	4	0	0	66	82	160	142	146	146
2	80,6	48,4	47,4	—	0	0	4	8	52,5	101	71	61
3	60,8	35,3	33,3	5	0	0	18,7	45	100	131,3	187,5	38
4	60,2	21,6	14,3	3	0	0	22	52	135	202	125	102
5	93,4	42,4	81	106	110	—	24	25	38	37,8	125	—

Примечание. В опыте № 5 культура не была чистой.

Вторая серия опытов

	Дни															
									NO_2							
	8	12	14	16	19	21	23	26	8	12	14	16	19	21	23	26
1	92,1	63,7	9,1	0	0	0	0	0	19	70	84	85	124	102	86	—
2	91,3	9,1	0	0	0	0	0	0	75	135	144	154	194	180	114	—
3	88	32,9	10	0	0	0	0	0	51	101	120	119,5	164	164	108	107
4	85	7,7	0	0	0	0	0	0	42	135	145	150	164	170	156	114

Примечание. В первой и во второй серии опытов начальное количество аммиака было взято такое же, как в среде Виноградского (300 мг/л).

Что же касается образования нитритов, то они не возрастают прямо пропорционально количеству окисленного аммиака. Существует определенный максимум для их образования, который лежит, в зависимости от опыта, между 19-м и 27-м днями. Как правило, на 30-й день нитритов в среде меньше, чем в более молодых культурах. Таким образом, и в опытах с живыми клетками Nitrosomonas, размножающимися в культуре, мы сталкиваемся с той же закономерностью, что и в опытах с автолизатами. Образование нитритов достигает своего максимума раньше, чем заканчивается процесс окисления аммиака. Дать исчерпывающее объяснение этому факту сейчас было бы затруднительно. Можно лишь высказать отдельные гипотезы. Так, можно предполагать, что в опытах с автолизатами более лабильными и скорее инактивирующимися являются ферментные системы, окисляющие промежуточные продукты окисления до нитритов. Они начинают функционировать сразу после получения автолизатов, а затем их деятельность резко ослабевает. Второе предположение связано с тем, что как в автолизатах, так и в культурах мы сталкиваемся с одновременно идущими окислительно-восстановительными процессами и в более старых культурах, или при более поздних сроках опытов с автолизатами проходит частичная редукция образовавшихся нитритов. Во всяком случае это не чисто химический процесс, так как специально проведенные нами опыты показали, что растворы нитритов не восстанавливаются за эти сроки.

Могло возникнуть предположение, что как в опытах с автолизатами, так и в опытах с живыми размножающимися культурами Nitrosomonas происходит не только изменение форм азота, но одновременно наблюдается и изменение его количества. В связи с этим было произведено определение начального и конечного (через 6 дней) количества азота в бесклеточных автолизатах Nitrosomonas и общего количества азота в культуре Nitrosomonas в начале и в культурах 26-дневного возраста. Результаты этих определений приведены в табл. 3 и 4. Из этих данных может быть сделан один вывод. Общее количество азота в автолизатах и в культурах Nitrosomonas не изменяется в течение всего периода исследований, и, следовательно, возможность потерь азота, в частности за счет улетучивания аммиака, полностью исключается. Эти данные подтверждают результаты аналогичных опытов, проведенных ранее, но только с автолизатами [2]. Следовательно, в условиях эксперимента происходит изменение форм азота, но его общее количество остается без изменения.

Таблица 3

Общее количество азота в бесклеточных автолизатах Nitrosomonas (в мг/л)

№	Начальное количество N_2	Конечное количество N_2 (через 6 дней)
1	99,1	97,9
2	97,62	96,96
3	97,3	96,56
4	108,13	108,82

Таблица 4

Общее количество азота в культуре Nitrosomonas (в мг/л)

№	Начальное количество N_2	Конечное количество N_2 (через 26 дней)
1	65,1	63,4
2	68,2	70
3	67,9	66,8
4	62,3	60,1

Остается рассмотреть один общетеоретический вопрос. Обычно в исследованиях по нитрификации, независимо от того, кем они проводятся, наблюдается несоответствие между количествами окисленного аммиака и образовавшихся нитритов. Мы подразумеваем, конечно, опыты с культурами Nitrosomonas.

Если мы обратимся к табл. 2 и произведем обычные расчеты, то увидим, что только 25—35% азота аммиака переходит в окисленную форму. Следовательно, около двух третей азота аммиака не окисляется в условиях опыта в нитриты. Так как общее количество азота в культуре остается одним и тем же (табл. 4), то необходимо придти к выводу, что в культурах нитрифицирующих бактерий азот должен находиться в иной, помимо аммиака и нитритов, форме. Естественно, что некоторая часть азота используется для биосинтеза белка клеток Nitrosomonas. Далее, можно предполагать, что частично азотсодержащие продукты находятся в культуральной жидкости в результате гибели и автолиза клеток нитрифицирующих бактерий. Однако сейчас есть все основания предполагать, что определенное количество аммиака окисляется лишь до промежуточных азотсодержащих продуктов и остается связанным с клетками Nitrosomonas. О существовании таких продуктов можно говорить на основании работ Рубан и Заварзина, доказавших возможность остаточной нитрификации, т. е. процесса образования нитритов в среде, не содержащей аммиака, и протекающего исключительно за счет окисления промежуточных продуктов нитрификации. Вопрос о том, играет ли в этом случае главную роль гидроксиламин или другие продукты, окончательно не выяснен, но бесспорно, что окисление аммиака до нитритов — это «многоступенчатый» процесс, осуществляемый несколькими ферментными системами с образованием ряда промежуточных продуктов. Исследования, проводившиеся

с бесклеточными автолизатами, подтверждают сложность этого процесса, так как его первый этап, именно окисление аммиака, осуществляется ферментативным путем довольно легко — количество аммиака все время резко падает, тогда как в бесклеточных автолизатах, полученных из клеток гетеротрофных бактерий, его количество возрастает.

В этих опытах, так же как и в опытах с размножающимися культурами, нитритов образуется меньше, чем окислилось аммиака. Но это расхождение выражено гораздо более резко. Повидимому, окисление промежуточных продуктов до нитритов происходит медленнее в условиях опытов с бесклеточными автолизатами клеток. Однако эксперименты, описанные в данной статье, позволили установить, что образование нитритов характерно для относительно кратковременных опытов, количество нитритов больше на первый-второй день опыта, чем на пятый день. Следовательно, в наших прежних исследованиях, когда определение нитритов осуществлялось только на пятый день [2], мы обнаруживали в два-три раза меньше нитритов, чем их образуется в действительности. Опыты с размножающимися клетками Nitrosomonas в культуре показали, что в этих условиях также наблюдается падение количества нитритов, правда сравнительно незначительное. Выяснение причин, приводящих к уменьшению нитритов в среде, — задача дальнейших исследований.

Выводы

1. Изучение динамики окисления аммиака и образования нитритов, вызываемого ферментами, содержащимися в бесклеточных фильтратах автолизатов, полученных из клеток Nitrosomonas, подтвердили ранее установленное интенсивное окисление аммиака в этих условиях.

2. Доказано, что под влиянием бесклеточных автолизатов максимальное образование нитритов наблюдается на первый или второй день опыта, тогда как на пятый день общее количество нитритов уменьшается.

3. Существование максимума в образовании нитритов и последующее их уменьшение было установлено также и в размножающихся культурах Nitrosomonas. Обычно количество нитритов в культуре достигает своего максимума на 19—27-й день, а затем оно падает.

4. Количество образующихся нитритов всегда меньше, чем следовало бы ожидать в том случае, если бы весь аммиак, составляющий разность между внесенным в начале опыта и обнаруженным в конце, окислился бы до нитритов. Это несоответствие в опытах с бесклеточными автолизатами выражено более резко, чем в опытах с размножающимися культурами.

5. Содержание общего азота в бесклеточных автолизатах, а также в культурах Nitrosomonas как в начале, так и в конце опыта остается одним и тем же.

Институт микробиологии
Академии наук СССР
Москва

Получено 1. V. 1955 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Имшенецкий А. А. и Рубан Е. Л. Бесклеточная нитрификация. I. Выращивание культур Nitrosomonas и получение автолизата клеток. Микробиология, XXIII, 271, 1954.
2. Имшенецкий А. А. и Рубан Е. Л. Бесклеточная нитрификация. II. Окисление аммиака автолизатом клеток Nitrosomonas. Микробиология, XXIII, 393, 1954.

ДИНАМИКА РАЗМНОЖЕНИЯ ACETOBACTER SUBOXYDANS И ОКИСЛЕНИЕ ИМ СОРБИТА НА СРЕДАХ С КОМПЛЕКСОМ ВИТАМИНОВ В

С. М. Ждан-Пушкина

Вопрос об особенностях размножения сорбозных бактерий на средах с комплексом витаминов В («В-комплексом») до сих пор не освещен в литературе. В то же время среда эта нашла практическое применение. В-комплекс является дрожжевой средой, однако по своему составу он несколько отличается от дрожжевой воды. Комплекс витаминов группы В, или В-комплекс, получается в витаминном производстве путем гидролиза пекарских дрожжей соляной кислотой с последующим упариванием гидролизата до 50% сухих веществ. Концентрат содержит в мг на 1 г: витаминов B_1—0,04, B_2—0,163, B_6—0,1; холина — 7,1; никотиновой кислоты — 2,0; пантотеновой кислоты — 0,35. Выяснение различий в размножении бактерий и окислении ими сорбита на двух средах, из которых одна, В-комплекс, входит в практику, а другая, дрожжевая вода, широко используется в микробиологических работах, представляет значительный интерес. Наблюдения Митюшовой [7] показали, что при использовании В-комплекса в концентрации 0,05%, с добавлением азотнокислых солей наблюдается хорошее развитие Acet. suboxydans и окисление им сорбита при поверхностном культивировании бактерий.

Мы имели в виду проследить за размножением Acet. suboxydans на средах, приготовленных только из В-комплекса, без внесения в качестве дополнительных источников азота азотнокислых солей.

Состав использованной среды варьировал по содержанию комплекса витаминов В. Опыты проводились на средах, содержащих 0,05, 0,5 и 5,0% В-комплекса (в объемных процентах). Концентрация сорбита — 10%.

Методика постановки опытов в условиях усиленной аэрации, температура и учет микроорганизмов описаны в предыдущих наших работах [2, 3]. В качестве посевного материала использовалась культура Acet. suboxydans, выращенная в колбе Эрленмейера на среде, содержащей 0,5% В-комплекса с 10% сорбита, в течение 24—26 часов. Посевной материал вносился в сосуды для культивирования бактерий в условиях усиленной аэрации в количестве 4% (в объемных процентах).

Результаты опытов представлены в таблицах и на рисунке. В табл. 1 и на рисунке приведены данные о размножении Acet. suboxydans на средах с различным содержанием В-комплекса.

Из таблицы видно, что при культивировании бактерий на среде с 0,05% В-комплекса размножение Acet. suboxydans протекает крайне медленно. К 12 часам после засева количество бактерий увеличивается в 4—10 раз и держится на этом уровне до 24 часов. Повидимому, такое количество питательных веществ в среде не может обеспечивать более интенсивного размножения бактерий. При культивировании бактерий на средах с 0,5% В-комплекса интенсивность размножения значительно возрастает. К 12 часам количество бактерий равно 1258 млн., к 18 часам культура достигает микробного числа, которое составляет 1800—2100 млн. клеток в 1 мл среды. Через 24 часа после засева отмечается отмирание бактерий. Количество бактерий падает до 1070 млн. в 1 мл.

Таблица 1

Размножение Acet. suboxydans на средах с различным содержанием В-комплекса
(количество бактерий в миллионах в 1 мл)

Продолжительность опыта в часах	Содержание В-комплекса		
	0,05%	0,5%	5,0%
В начале опыта	19,0 15,9 33,8	19,4 17,7 31,5	19,1 23,5 33,9
Среднее в начале опыта	22,9	22,8	25,5
12 часов	57,7 127,0 125,0	1101,0 1113,0 1560,0	1510,0 2190,0 1915,0
Среднее за 12 часов	102,0	1258,0	1871,0
18 часов	88,4 163,0 132,0	1860,0 1950,0 2107,0	2720,0 3263,0 3737,0
Среднее за 18 часов	126,0	1972,3	3240,0
24 часа	161,7 125,0	1040,0 1110,0	1620,0 1215,0
Среднее за 24 часа	143,0	1070,0	1417,0

Значительно интенсивнее процесс размножения Acet. suboxydans протекает при культивировании бактерий на средах, содержащих 5% В-комплекса. При размножении в этих условиях количество бактерий к 12 часам возрастает до 1900 млн. в 1 мл среды, к 18 часам — до 3240 млн. в 1 мл среды — эта величина является микробным числом при культивировании бактерий в этих условиях. К 24 часам в культуре отмечается отмирание бактерий.

Таким образом, среда, содержащая 5% В-комплекса, наиболее богатая питательными веществами, оказывается наиболее благоприятной для размножения.

Данные, полученные нами, согласуются с указаниями, имеющимися в литературе о значении концентрации питательных веществ в среде при размножении различных бактериальных культур.

В литературных обзорах Новогрудского [8], Стефенсон [9], посвященных вопросам размножения микроорганизмов, указывается, что скорость размножения и величина общего урожая зависят от количества питательных веществ в среде.

Изменение скорости размножения бактерий при увеличении концентрации питательных веществ в среде наблюдал Жданов [4] на Micrococcus candicans, Робертс (Roberts [11]) на Bact. coli, Гартох и Каневская [1] на дизентерийных бактериях, Ковалева, Гостев и др. [5] на брюшнотифозных, паратифозных и дизентерийных бактериях. Они показали, что при размножении с аэрацией обнаруживается интенсивное потребление питательных веществ и прекращение роста, как правило, совпадает с исчерпанием запасов питания. Козловский, Китайгородская и Рыбалко [6] счи-

тают, что при глубинном способе получения уксусной кислоты для бактерий необходимо большее количество питательных веществ.

Бернгауер и Ридль-Тумова (Bernhauer u. Riedl-Tumova [10]) при культивировании сорбозных бактерий на средах, содержащих большое количество питательных веществ (дрожжевой автолизат, пивное сусло, желатина, глюкоза и $CaCO_3$), наблюдали пышное размножение бактерий.

В наших опытах по размножению Acet. suboxydans на средах с различным содержанием В-комплекса оказалось, что с увеличением количества питательных веществ скорость размножения и величина микробного числа возрастали.

Наблюдая за размножением Acet. suboxydans на средах с В-комплексом, мы установили, что в процессе размножения величина pH среды понижается примерно так же, как и при размножении бактерий на средах, приготовленных из дрожжевой воды. Поэтому в последующих опытах мы проследили за размножением Acet. suboxydans на среде с 5% В-комплекса, при нейтрализации образующихся кислот. Нейтрализация кислот проводилась по уже описанной методике [2, 3].

Результаты проведенных опытов представлены в табл. 2.

Таблица 2

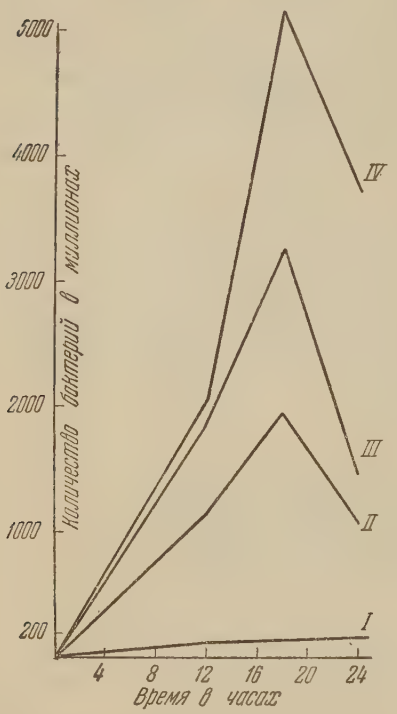
Размножение Acet. suboxydans на среде с 5% В-комплекса и с 10% сорбита при нейтрализации кислот (количество бактерий в миллионах в 1 мл)

Продолжительность опыта в часах	Контроль	Опыт
В начале опыта	33,9 36,8	35,0 32,2 31,8
Среднее в начале опыта	35,3	33,9
12 часов	2220,0 2010,0 1860,0	2210,0 2120,0 2380,0 1520,0
Среднее за 12 часов	2063,0	2057,0
18 часов	2820,0 3630,0 3220,0	4645,0 6130,0 4043,0 5820,0
Среднее за 18 часов	3223,0	5159,0
24 часа	1570,0 1340,0	3830,0 3620,0
Среднее за 24 часа	1455,0	3720,0

Примечание. Контроль — среда с 5% В-комплекса; опыт — среда с 5% В-комплекса с внесением соды.

Из таблицы видно, что при размножении бактерий в среде, содержащей 5% В-комплекса и при нейтрализации кислот обнаруживается значительный подъем кривой размножения. К 18 часам количество бактерий возрастает до 5159 млн. в 1 мл. К 24 часам отмечается гибель клеток в культуре.

Сопоставляя данные, полученные при наблюдении за размножением Acet. suboxydans на средах с различным содержанием В-комплекса, видим, как в зависимости от концентрации питательных веществ изменяется характер кривых размножения (см. рисунок).



Кривые размножения Acet. suboxydans на средах с В-комплексом

I — 0,05% В-комплекса; *II* — 0,5%; *III* — 5%; *IV* — 5% В-комплекса и при нейтрализации кислот

На среде с 0,05% В-комплекса кривая размножения, чуть приподнявшись, тянется в течение 24 часов почти параллельно оси абсцисс. При культивировании на среде с 0,5% В-комплекса кривая размножения с момента засева поднимается вверх в течение 18 часов, достигая к этому времени микробного числа. Стремительно вверх поднимаются кривые размножения при культивировании бактерий на средах с 5% В-комплекса.

На средах же с 5% В-комплекса и при нейтрализации кислот микробное число культуры возрастает примерно в два с половиной раза по сравнению с микробным числом Acet. suboxydans, выращиваемым в среде с 0,5% В-комплекса.

Анализируя данные по размножению Acet. suboxydans на витаминных средах и сравнивая их с результатами опытов, полученными при наблюдении за размножением бактерий на средах, приготовленных из дрожжевой воды [2, 3], мы видим, что динамика размножения на среде, содержащей 5% В-комплекса, близка к размножению бактерий в средах, содержащих 0,95% сухих веществ дрожжевой воды. Характер размножения и величина микробного числа Acet. suboxydans, выращенного на среде с 0,5% В-комплекса, оказывается очень сходным с размножением на среде с 0,5% сухих веществ дрожжевой воды.

Одновременно с изучением размножения Acet. suboxydans мы проследили за окислением им сорбита в сорбозу при культивировании на средах с В-комплекса. Определение сорбозы проводилось методом Бертрана через 18 часов после засева.

Из данных, приведенных в таблице, видно, что на среде с 0,05% В-комплекса к 18 часам окисляется всего 41,5% сорбита. Такое низкое содержание В-комплекса не обеспечивает в достаточной мере ни процесса размножения, ни окисления сорбита. При культивировании же бактерий на среде с 0,5% В-комплекса к этому же времени окисляется 96,1% сорбита. Следовательно, среда, содержащая 0,5% В-комплекса, оказывается благоприятной и для размножения и для окисления сорбита Процесс окисления протекает в этих условиях примерно так же, как на средах, содержащих 0,5% сухих веществ дрожжевой воды.

Таблица 3

Окисление сорбита Acet. suboxydans на средах с различным содержанием В-комплекса

(количество сорбозы в %)

Содержание В-комплекса		
0,05%	0,5%	5%
37,7	96,0	96,0
47,7	94,5	86,5
39,2	98,0	90,5
Среднее 41,5	96,1	91,0

При увеличении количества питательных веществ до 5% В-комплекса к 18 часам окисляется до 91,0% сорбита.

Проанализировав процесс размножения Acet. suboxydans и окисления им сорбита на средах с различным содержанием В-комплекса, можно придти к заключению, что В-комплекс является средой, вполне пригодной для жизнедеятельности сорбозных бактерий.

В заключение приношу благодарность проф. З. Г. Разумовской, под руководством которой была выполнена данная работа.

Выводы

Наблюдения за размножением Acet. suboxydans и окислением им сорбита на средах с В-комплексом показали, что в соответствующей концентрации В-комплекс делает среду вполне пригодной для жизнедеятельности данной культуры. С увеличением в средах содержания В-комплекса скорость размножения бактерий и количество их возрастают. Особенно резко увеличивается количество клеток при размножении Acet. suboxydans на средах с 5% В-комплекса и при нейтрализации образующихся кислот. Увеличение В-комплекса в среде от 0,5 до 5% в большей мере сказывается на размножении бактерий, чем на окислении им сорбита. На средах с 0,5% и 5% В-комплекса интенсивность окисления сорбита почти одинакова.

Ленинградский государственный университет им. А. А. Жданова

Получено 18. XII. 1954 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гартох О. О. и Каневская М. П. К вопросу о микробном числе. Сов. врач. газета, № 7, 393, 1932.
2. Ждан-Пушкина С. М. Изучение особенностей развития культуры Acetobacter suboxydans, используемой в качестве посевного материала для глубинного окисления сорбита в сорбозу. Диссертация. ЛГУ. 1953.
3. Ждан-Пушкина С. М. Динамика размножения Acetobacter suboxydans на средах, приготовленных из дрожжевой воды. Микробиология, XXIV, вып. 4, стр. 447, 1955.
4. Жданов В. М. Количественные закономерности динамики размножения бактерий в логарифмической фазе. Тр. Укр. ин-та эпидем. и микроб. им. Мечникова, XIII, 27, 1947.
5. Ковалева Н. И., Гостев В. С., Яковлева Л. В., Касторская А. П. Закономерности роста брюшнотифозных, паратифозных и дизентерийных Флекснера и Зонне бактерий и динамика потребления ими питательных веществ при культивировании на синтетической среде в условиях аэрации. Тезисы докладов на Межинститутской конференции по проблеме «Научное производство вакцин и сывороток». Апрель. Стр. 3, 1954.
6. Козловский Г. И., Китайгородская И. П., Рыбалка Д. А. Глубинное окисление этилового спирта в уксусную кислоту. Консультации по пищевой промышленности, вып. 4 (29), 66, 1949.
7. Митюшова Н. М. Исследование газообмена уксуснокислых бактерий при окислении сорбита в сорбозу. Диссертация. ЛГУ, 1951.
8. Новогрудский Д. М. Рост и размножение бактериальных культур. Руководство по микробиологии и эпидемиологии под ред. Великанова. 1937.
9. Стефенсон М. Метаболизм бактерий. 1951.
10. Bernhauer K. u. Riedl-Tumova E. Oxydationen mittels Essigbakterien. Biochem. Zschr., **320**, 5, 466, 1950.
11. Roberts R. Influence of aeration on rate of growth in cultures. Nature, **165**, No. 4195, 494, 1950.

ОБРАЗОВАНИЕ И СОХРАНЕНИЕ АНТИБИОТИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ АКТИНОМИЦЕТОВ В ПОЧВЕ

А. И. Кореняко, О. И. Артамонова и С. В. Летунова

В настоящее время накопился большой экспериментальный материал, показывающий, что микробы-антагонисты и вырабатываемые ими антибиотические вещества могут быть использованы для предохранения растений от заболеваний, вызываемых фитопатогенными бактериями и грибами [1—5, 7, 15 и др.].

Образование микроорганизмами антибиотических веществ в почве наблюдали многие — Grossbard [12], Stevenson, Lochhead [14], Hessayon [13] и др. Красильниковым установлены условия образования и сохранения антибиотиков, а также и степень активности их в почве [6].

Сохраняемость антибиотических веществ в почве отмечена многими исследователями — Gottlib a. Martin [8], Gregory, Allen и др. [11], Красильников [6]. Целью наших исследований было — проследить за накоплением и сохранением некоторых антибиотических веществ актиномицетов в почве. Имеющиеся в литературе данные по этому вопросу в основном касаются очищенных антибиотических веществ (стрептомицина, хлормицетина, террамицина, ауреомицина и др.).

Наши исследования проводились с нативными антибиотиками, т. е. культуральными жидкостями.

Методика

Для исследования были взяты следующие почвы:

1. Подзол — суглинок: Тимирязевская с.-х. академия; pH = 5,52—6,14.
2. Чернозем — обыкновенный: Молдавия; pH = 6,8—7,3.
3. Серозем: Средняя Азия; pH = 6,83—6,92.
4. Краснозем: Кавказ, Институт чая и субтропических культур; pH = 4,39—4,84.

Актиномицеты выращивались в жидких питательных средах: Чапека и рыбной. Состав рыбной среды (в г): глюкоза — 20 г, рыбный экстракт — 10 г, мел — 2 г, вода водопроводная — 1 л.

Культуральная жидкость вносилась в стерильную почву. Титр антибактериальной ее активности равнялся 250 единицам по отношению к Staph. aureus, что устанавливалось методом разведения в МПБ. На 100 г почвы вносилось 30 мл культуральной жидкости. Контролем служила почва, к которой добавлялась стерильная питательная среда. Наличие в почве внесенных антибиотиков определялось спустя 1 час, 4 часа и 1, 2, 3, 4 и более суток после внесения. Определение их производилось двумя методами: 1) наложением комочков почвы на поверхность агаризованной среды в чашке Петри, засеянной тест-объектом; 2) экстракцией антибиотических веществ из почвы органическими растворителями: этиловым спиртом, метанолом, ацетоном и др.

Для экстракции небольшое количество почвы помещалось в стерильную колбочку, содержавшую растворитель. Почва с растворителем встряхивалась 10—12 минут для лучшего перехода антибиотика в растворитель. Полученный экстракт отделялся от почвы, выпаривался; осадок затем разбавлялся водой. В этом растворе определялось наличие актив-

ного вещества по методу диффузии в агар цилиндриками. Тест-организмом был Staph. aureus. О наличии антибиотика судили по зоне отсутствия роста вокруг комочков почвы или цилиндриков. В работе со стерильной почвой применялся в основном метод наложения комочков, в работе с нестерильной почвой — оба метода.

Экспериментальная часть

В табл. 1 приводятся сравнительные данные определения сохранения антибиотика продуцируемого Act. № 76 в почве двумя методами.

Таблица 1

Сравнительная оценка методов определения антибиотических веществ (Act. № 76) в разных почвах

(цифры означают величину зоны подавления роста тест-культуры в мм)

Метод	Время															
	5 дней				8 дней				20 дней				25 дней			
	Тип почвы															
	Подзол	Серозем	Чернозем	Краснозем	Подзол	Серозем	Чернозем	Краснозем	Подзол	Серозем	Чернозем	Краснозем	Подзол	Серозем	Чернозем	Краснозем
Наложение комочков . . .	7	6	7	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Экстракция спиртом	5	4	3	4	4	2	4	5	3	2	5	3	0	0	0	0
Один спирт (контроль) . . .	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Как видно из табл. 1, определение методом экстрагирования дает лучшие результаты. Методом наложения комочков антибиотик Act. № 76 обнаруживается на пятые сутки хранения его в почве, после чего обнаружить его нельзя, в то время как методом экстракции мы обнаруживаем антибиотик и на 20-е сутки.

Таким образом, метод экстракции антибиотика из почвы растворителем позволяет обнаруживать такие количества антибиотика, которые методом наложения комочков уже не улавливаются.

Образование и накопление в почве антибиотиков, продуцируемых внесенными туда актиномицетами, также определялось вышеописанными методами. Испытуемые актиномицеты вносились в почву в виде взвеси спор. Почвы пропитывались либо водой, либо питательной средой или раствором некоторых органических веществ, например глюкозы.

Нами изучалось:

1) образование антибиотических веществ в почве актиномицетами;

2) сохранение антибиотических веществ актиномицетов в стерильной и нестерильной почве.

Образование антибиотических веществ актиномицетов в почве

Из литературных данных и из наших исследований видно, что антибиотики актиномицетов, внесенные в почву, сохраняются в ней. Возникает вопрос — может ли происходить образование антибиотических веществ микроорганизмами в самой почве. Решение этого вопроса имеет большое теоретическое и практическое значение. С разрешения его мы и начали наши исследования.

Для того чтобы создать лучшие условия для образования актиномицетами антибиотических веществ в почве, мы прибавляли к ней различ-

ные органические вещества в виде рыбной среды, глюкозы, или среды Чапека. Grossbard [12], Stevenson [14] и др. в своих исследованиях вносили в почву сено, свежую траву, глюкозу и другие органические вещества.

Первые опыты мы провели в стерильной сероземной почве. В почву, помещенную в колбу, прибавлялись питательные среды — рыбная и Чапека в количестве 30 мл на 100 г почвы. Затем в почву вносились споры соответствующих актиномицетов, после чего они инкубировались в термостате при 27° в течение 10—20 дней. Через определенные промежутки времени почва анализировалась на наличие в ней антибиотических веществ. Последние определялись вышеописанными методами.

Результаты этих опытов приведены в табл. 2.

Таблица 2

Образование антибиотических веществ актиномицетами в стерильном сероземе с добавлением питательных сред

(цифры означают величину зоны подавления роста Staph. aureus в мм)

Актиномицеты	Добавлено к почве					
	Рыбная среда			Среда Чапека		
	Сразу после посева	После 3 дней инкубации	После 7 дней инкубации	Сразу после посева	После 3 дней инкубации	После 7 дней инкубации
Act. violaceus № 1806	0	4	4	0	4	3
Act. aurantiacus № 1149	0	5	3	0	5	3
Act. globisporus № 2302	0	5	5	0	4	5
Act. griseus № 2535	0	1	3	0	2	3
Act. sp. № 76 . . .	0	5	5	0	5	5
Контроль	0	0	0	0	0	0

Из данных табл. 2 видно, что испытанные актиномицеты довольно быстро образуют в почве антибиотические вещества. Уже через 3 дня они

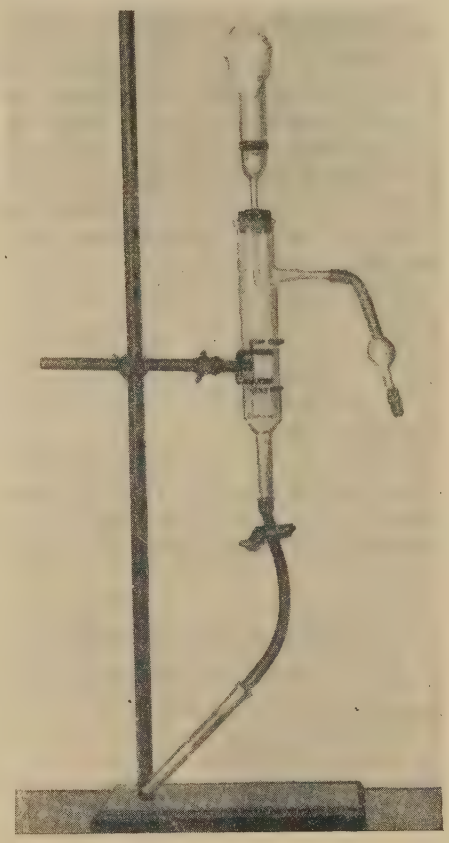
Таблица 3

Образование антибиотических веществ актиномицетами в стерильной почве

(цифры означают величину зоны подавления роста Staph. aureus в мм)

Актиномицеты	Добавлено к почве																	
	Глюкоза									Рыбная среда								
	Сразу после посева			После 5 дней роста			После 7 дней роста			Сразу после посева			После 5 дней роста			После 7 дней роста		
	Подзол	Серозем	Чернозем	Подзол	Серозем	Чернозем	Подзол	Серозем	Чернозем	Подзол	Серозем	Чернозем	Подзол	Серозем	Чернозем	Подзол	Серозем	Чернозем
Act. violaceus № 1806	0	0	0	0	5	5	0	3	2	0	0	0	3	3	0	3	2	0
Act. aurantiacus № 1149	0	0	0	0	2	2	0	3	2	0	0	0	2	2	2	2	1	2
Act. globisporus № 2302	0	0	0	2	4	4	2	5	5	0	0	0	3	5	5	5	5	5
Act. sp. № 76 . . .	0	0	0	5	5	5	5	5	5	0	0	0	6	2	6	5	2	5
Act. griseus № 2535	0	0	0	3	3	3	2	2	2	0	0	0	5	2	2	4	3	3

обнаруживаются в достаточной концентрации, чтобы подавить рост бактерий испытуемых тест-культур. В последующих опытах мы в стерильную почву вносили в качестве источника питания одну глюкозу или одну рыбную среду, полагая, что все остальные элементы, необходимые для роста актиномицета, имеются в самой почве.



В таб. 3 приведены результаты этих опытов. Из них видно, что при добавлении одной глюкозы или рыбной среды в почве происходит образование антибиотических веществ.

Нами проведены также опыты в специально сконструированном приборе (см. рисунок). Прибор состоит из стеклянной трубки, дно которой имеет стеклянный фильтр, не пропускающий почву. Эта трубка при помощи резиновой пробки соединялась с приемником. Приемник представляет собой стеклянный цилиндр, имеющий два отверстия. Одно отверстие находится сбоку и служит для соединения с вакуумным насосом, второе отверстие находится внизу и служит для слива жидкости при отжатии раствора из почвы. Данный прибор дает возможность, не нарушая структуру почвы, время от времени определять наличие в ней антибиотика.

Почва насыпалась в верхнюю трубку, пропитывалась затем раствором глюкозы из расчета 2,5% от веса почвы и стерилизовалась. После стерилизации почва засевалась испытуемыми актиномицетами и инкубировалась при 27°.

Таблица 4

Образование антибиотических веществ в стерильной почве без добавления энергетических веществ

(цифры означают величину зоны отсутствия роста Staph. aureus в мм)

Время	Сразу после посева			Спустя 3 дня		
Актиномицеты	Подзол	Серозем	Чернозем	Подзол	Серозем	Чернозем
Act. griseus № 2535	0	0	0	3	2	2
Act. globisporus sp. № 81 B	0	0	0	5	4	2
Act. aurantiacus № 1149	0	0	0	0	4	4
Act. globisporus vulgaris № 2570 . . .	0	0	0	0	0	4
Act. sp. № 76 . . .	0	0	0	0	0	0
Act. griseus variabilis № 2393	0	0	0	0	0	0
Act. violaceus № 1806	0	0	0	0	0	0
Act. sp. № 2387 . .	0	0	0	0	0	0

Спустя некоторое время определялось наличие в почве антибиотика. Этим методом были испытаны две культуры актиномицетов — Act. griseus variabilis № 2393 и Act. aurantiacus. Через три дня инкубации в почвенной вытяжке обнаружилось наличие активных веществ, дающих зону угнетения роста Staph. aureus 10 мм в случае заражения Act. griseus variabilis и 8 мм — в почве с Act. aurantiacus. В следующей серии опытов почва заражалась актиномицетами без внесения органических веществ. Результаты приведены в табл. 4.

Как видно из табл. 4, некоторые виды актиномицетов способны образовывать антибиотические вещества в почве и без добавления органических веществ. Многие актиномицеты для образования антибиотиков в почве все же нуждаются в дополнительном внесении органических веществ. Характер почвы влияет на образование антибиотических веществ разными видами актиномицетов. Так, в подзоле из испытанных актиномицетов образовывали антибиотические вещества только две культуры — Act. griseus № 2535 и Act. globisporus sp. № 81В, в то время как на черноземе антибиотические вещества образовывали четыре вида.

Последняя серия опытов была проведена с нестерильной почвой. Почву помещали в сосуды, в каждый из них вносилась глюкоза из расчета 2,5%, в другую часть сосудов вносилась рыбная среда в количестве 30 мл на 100 г почвы. Почва увлажнялась до 60% от полной влагоемкости, заражалась испытуемыми актиномицетами и инкубировалась при 27°. Результаты этих опытов приведены в табл. 5.

Таблица 5.

Образование антибиотиков актиномицетами в нестерильной почве

(цифры означают величину зоны подавления Staph. aureus в мм)

Актиномицеты	Act. g'obispo-rus subsp. № 2302				Act. globispo-rus vu'garis № 2570				Act. № 2387			
Врéмя в сутках	После посева		Спустя 4 дня		После посева		Спустя 4 дня		После посева		Спустя 4 дня	
	Метод				Метод				Метод			
Наименование варианта	комочков	экстракции	комочков	экстракции	комочков	экстракции	комочков	экстракции	комочков	экстракции	комочков	экстракции
Чернозем + 2,5% глюкозы	0	0	5	5	0	0	2	5	0	0	3	5
Чернозем + 10% рыбной среды — 30 мл на 100 г почвы	0	0	4	5	0	0	0	0	0	0	0	0
Серозем + 2,5% глюкозы	0	0	5	5	0	0	3	7	0	0	3	5
Серозем + 10% рыбной среды — 30 мл на 100 г почвы	0	0	3	5	0	0	0	0	0	0	0	0
Подзол + 2,5% глюкозы	0	0	0	5	0	0	2	5	0	0	0	0
Подзол + 10% рыбной среды — 30 мл на 100 г почвы	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0

Из данных таблицы видно, что актиномицеты — продуценты антибиотиков при наличии энергетических веществ в почве способны образовывать антибиотические вещества в нестерильной почве. Антибиотические вещества особенно хорошо образуются при добавлении глюкозы, прибавление рыбной среды менее эффективно.

Полученные данные показывают, что в естественной почве при благоприятных условиях актиномицеты могут образовывать антибиотики. Образование их происходит как в стерильных, так и в нестерильных условиях, т. е. в условиях, приближающихся к природе.

Сохранение антибиотических веществ актиномицетов в почве

Массовые анализы показали, что многие антибиотические вещества актиномицетного происхождения, внесенные в виде нативных жидкостей, хорошо сохраняются в стерильной почве. Были испытаны нативные жидкости 70 актиномицетов. Для более детального изучения было отобрано 13 культур, принадлежащих к разным видам. Исследования проведены со следующими видами, выделенными из почвы: Act. violaceus, Act. aurantiacus, Act. globisporus vulgaris, Act. globisporus sp., Act. griseus, Act. griseus variabilis, Act. sp. № 76 и др. От каждой культуры были получены активные нативные жидкости и с ними производились исследования.

В первой серии опытов антибиотические вещества вводились в разные почвы, стерильные и нестерильные. Время от времени проверяли наличие антибиотиков вышеописанными методами. Результаты этих опытов приведены в табл. 6.

Таблица 6

Длительность сохранения нативных антибиотических веществ в почвах стерильных и нестерильных

(цифры означают время сохранения в сутках)

Актиномицеты	Характер почвы							
	Стерильные почвы				Нестерильные почвы			
	Подзол	Серозем	Чернозем	Красноземы	Подзол	Серозем	Чернозем	Красноземы
Act. violaceus № 1806	20	20	20	10	4	3	3	2
Act. aurantiacus № 1149	180	>180	>180	120	6	5	5	5
Act. aurantiacus № 1306	180	>180	>180	120	8	8	8	8
Act. globisporus sp. № 2302 . .	120	180	180	<5	6	5	7	0
Act. globisporus sp. № 81 . . .	120	180	180	<5	7	6	7	0
Act. sp. № 76	180	180	180	180	20	20	22	20
Act. griseus № 2535	>180	>180	>180	5	1	1	1	1
Act. griseus variabilis № 2393 . .	120	120	120	25	12	12	12	11

Как видно из этих данных, в стерильной почве нативные антибиотики, подобно химически чистым препаратам, сохраняются значительно лучше, чем в нестерильной почве. Длительность сохранения зависит от типа почвы и природы антибиотического вещества, выделяемого тем или другим видом актиномицета.

Наиболее быстро антибиотические вещества инактивируются в красноземе. В подзоле, сероземе, черноземе антибиотические вещества актиномицетов сохраняются длительное время. Антибиотическое вещество Act. griseus инактивируется в нестерильной почве значительно быстрее, чем вещества других актиномицетов. Наиболее стойкие антибиотики образуются Act. aurantiacus, Act. griseus variabilis и Act. sp. № 76. Столь быстрая инактивация антибиотиков в красноземах, по нашему мнению, обусловлена кислотностью почвы. pH этих почв — 4,39—4,84. Для того, чтобы показать, что pH почвы влияет на сохранение антибиотических веществ указанных актиномицетов, мы провели опыт в нейтрализованной мелом почве. Мел прибавлялся в краснозем в количестве 1% от веса почвы; таким образом, pH был доведен до 6,83. Результаты этого опыта приведены в табл. 7.

Данные табл. 7 показывают, что и в красноземе антибиотические вещества Act. globisporus sp. № 2302, Act. violaceus и др. могут сохраняться длительное время, если изменить pH почвы в щелочную сторону.

Таблица 7

Сохранение антибиотических веществ актиномицетов в стерильном красноземе с добавлением 1% мела

(цифры означают величину зоны подавления роста St. aureus в мм)

Актиномицеты	Характер почвы	Время в сутках								
		1	2	3	7	10	15	20	27	35
Act. violaceus	Краснозем, pH=4,39—4,84 . . .	5	2	4	2	1	0	0	0	0
	Краснозем+ + мел, pH = 6,83	5	3	3	3	2	3	4	3	3
Act. globisporus sp. № 2302	Краснозем, pH=4,39—4,84 . . .	2	2	2	0	0	0	0	0	0
	Краснозем+ + мел, pH = 6,83	5	5	2	7	3	4	5	3	2

Выводы

1. Некоторые актиномицеты способны при благоприятных условиях (при наличии энергетических веществ) образовывать антибиотические вещества как в стерильной, так и в нестерильной почве.
2. Образование актиномицетами антибиотических веществ в почве зависит от характера почвы и вида актиномицета.
3. Антибиотические вещества, выделяемые различными видами актиномицетов, способны сохраняться в стерильной и нестерильной почве. Длительность сохранения антибиотических веществ зависит от их свойств и характера почвы.
4. Как правило, антибиотические вещества в стерильной почве сохраняются более длительно, чем в нестерильной.

Институт микробиологии
Академии наук СССР
Москва

Получено 1. II. 1955 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Красильников Н. А. Антибиотические свойства микроорганизмов. Журн. общ. биологии, VIII, 53, 1947.
2. Красильников Н. А. Актиномицеты — антагонисты и антибиотические вещества, Изд-во АН СССР, М., 1950.
3. Красильников Н. А. Биологическое значение антибиотиков. Тр. Ин-та микробиологии АН СССР, I, 142, 1951.
4. Красильников Н. А. Антибиотики в растениеводстве. Природа, № 7, 17, 1952.
5. Красильников Н. А. Микробы-антагонисты и антибиотические вещества в растениях. Изв. АН СССР, сер. биол., № 2, 49, 1953.
6. Красильников Н. А. Образование и накопление антибиотических веществ в почве. ДАН СССР, XC, № 5, 957, 1954.
7. Мирзабекян Р. О. Микробы-антагонисты и их антибиотические вещества в борьбе с фитопатогенной микрофлорой. Изв. АН СССР, сер. биол., № 2, 67, 1953.
8. Gottlib D. a. Martin N. The production and role of antibiotics in the soil. III. Terramycin and aureomycin. Phytopath., 42, No. 6, 294, 1952.
9. Gottlib D. a. Siminoff P. The production and role of antibiotics in the soil. I. The fate of streptomycin. Phytopath., 41, No. 5, 420, 1951.

10. Gottlib D. a. Siminoff P. The production and role of antibiotics in the soil. II. Chloromycetin. Phytopath., **42**, No. 2, 294, 1952.
11. Gregory K. F., Allen O. N. и др. Antibiotics as agents for the control of certain damping-off fungi. Amer. J. Bot., **39**, 405, 1952.
12. Grossbard E. Antibiotic production by fungi on organic manures and in soil. J. Gen. Microb., **6**, No. 34, 295, 1952.
13. Hessayon D. G. Fungitoxin in the soil. II. Trichothecin, its production and inactivation in unsterilized soil. Soil sci., **75**, 395, 1953.
14. Stevenson J. L., Lochhead A. G. The use of a percolation technique in studying antibiotic production in soil. Canad. J. Bot., **31**, 23, 1953.
15. Winter A G. u. Wilcke L. Untersuchungen über Antibiotica aus höheren Pflanzen und ihre Bedeutung für die Bodenmikrobiologie und Pflanzensoziologie, Naturwiss., **38**, 262, 1951.

ИЗУЧЕНИЕ РОДОВОГО И ВИДОВОГО СОСТАВА МИКРОФЛОРЫ РИЗОСФЕРЫ ДУБА

Е. И. Козлова

В настоящее время нет необходимости доказывать, какую громадную роль играют микроорганизмы в корневом питании растений.

Их значение достаточно хорошо известно. Однако весьма мало выяснен вопрос о том, какие именно виды микроорганизмов поселяются в корневой системе растений и какое влияние они оказывают на растение. Если количественное содержание микробов в зоне корней сравнительно хорошо изучено, то вопрос о видовом их составе остается в значительной мере еще открытым.

Лучше других в этом отношении изучен азотобактер, особенно в ризосфере травянистых растений, а также кустарников (Образцова [7], Исакова [2], Дараселия [1] и др.).

Видовой состав микрофлоры ризосферы древесных пород, если не считать работ Малышкина [4], Пушкинской [8] и др., мало изучен.

В задачу нашей работы входило изучение родового и видового состава микроорганизмов ризосферы молодых и взрослых дубов, произрастающих в разных районах Сталинградской области (Камышин — Сталинград — Тингута). Одновременно с этим велось сравнительное изучение микробного состава почв леса и степи, пробы которых отбирались на глубине 0—15, 0—18 см на небольшом расстоянии от ствола дубов.

Пробы для анализов отбирались в Камышине — в лесопитомнике Всесоюзного научно-исследовательского института агролесомелиорации (ВНИИАЛМИ), в дубовой балке близ совхоза «Пионер», расположенной в 10—12 км севернее гор. Камышина; в Сталинграде — в Григоровой балке и в Тингуте — в степном лесхозе.

Учитывались бактерии и грибы, причем первые выделялись на чашках Петри на МПА, вторые — на сусло-агаре и среде Чапека.

В излагаемых здесь исследованиях мы подвергали детальному изучению некоторые наиболее характерные группы микробов. Мы стремились обнаружить в изучаемых нами образцах группы, доминирующие в данных условиях (ризосфера, лес, степь), и формы, специфичные только для каких-нибудь определенных условий, а также выяснить, по возможности, родовой и видовой состав этих групп.

Мы остановились на пигментных формах, микобактериях, плесневых грибах и аммонификаторах.

При анализе колоний в чашках Петри было замечено, что в ризосфере дубов, произрастающих в разных районах, видное место занимают пигментные бактерии. Эта группа дает колонии, окрашенные в желтый, оранжевый и розовый цвета, и может быть отнесена, по Красильникову, к роду Chromobacterium — Chromobacterium aurantiacum и др.

Особенно много их встречается в ризосфере дубов Тингутинского степного лесхоза и Григоровой балки (Сталинград) (табл. 1). В ризосфере дубов Камышинского лесопитомника их или очень мало, или они совсем отсутствуют. Однако в дубовой балке, расположенной в 10—12 км севернее Камышина, в ризосфере дубов они представлены довольно богато.

Значительный интерес представляет тот факт, что количество окра-

шенных форм в ризосфере старых дубов во много раз превосходит число их в ризосфере молодых дубков. Так, в корневой системе взрослых дубов, произрастающих в Григоровой и дубовой балках, в отдельных случаях количество их достигало 50 и более процентов от всего состава микрофлоры, выделяющейся на чашках. Видное место пигментные бактерии занимают также и в почвах леса. В степи они обычно совсем не встречаются или представлены крайне бедно.

Заслуживает внимания и тот факт, что распространение окрашенных форм бактерий подвержено сезонным изменениям: весной их встречается меньше, чем осенью. Подобные колебания могут быть обусловлены наличием в осенний период в лесной почве и ризосфере большого количества неразложившегося органического материала.

В ризосфере молодого и старого дубов очень часто и в значительном количестве встречаются различные представители рода Pseudomonas, причем различные виды его выделяются на разных средах. Так, работая с МПА, мы часто сталкивались с видами, которых не удавалось обнаружить на сусло-агаре и среде Чапека. На МПА часто наблюдался рост мелких блестящих, слегка выпуклых серых или желтовато-коричневых колоний. Обильнее всего они были представлены в ризосфере взрослого дуба и скудно — в почве степи. В отдельных случаях количество их в ризосфере достигало 30% от общего числа бактерий. Ближайшее изучение морфологических и биохимических свойств этих бактерий показало их принадлежность к Pseudomonas fluorescens, Pseudomonas boreopolis и др. Рост их на среде Чапека и на сусло-агаре отсутствовал. На среде Чапека часто вырастали колонии бесцветные, слизистые, расплывающиеся по

Таблица 1

Количество спорообразующих аммонификаторов, окрашенных форм и микобактерий в процентах от общего числа бактерий, развивающихся на МПА

Место взятия проб	Спорообразующие аммонификаторы	Окрашенные формы	Микобактерии
Камышин (лесопитомник)			
Ризосфера молодого дуба . .	—	0	87,4
Ризосфера взрослого дуба . .	—	0	—
Лес	—	0	—
Степь	—	0	—
Дубовая балка близ совхоза „Пионер“			
Ризосфера взрослого дуба . .	49,2	50,8	0
Лес	70,8	29,2	—
Степь	97,2	2,8	—
Сталинград (Григорова балка)			
Ризосфера молодого дуба . .	—	4,7	—
Ризосфера взрослого дуба . .	—	46,7	40,8
Лес	—	57,5	—
Степь	100	0	—
Тингута			
Ризосфера взрослого дуба . .	50,0	50,0	0
Лес	66,8	33,2	—
Степь	100	0	—

субстрату, напоминающие громадные стеариновые капли. Особенно много их встречалось в ризосфере молодого и старого дубов. Они состояли из небольших подвижных бесспоровых палочек, отнесенных нами к Bact. radiobacter (по Красильникову — Pseudomonas radiobacter). На МПА подобных колоний почти не встречалось.

В корневой системе дуба в некоторых случаях было обнаружено значительное количество микобактерий. Иногда они составляли более половины общего числа микроорганизмов. Микобактерии встречаются не только в ризосфере дубов. Нам удалось наблюдать их, хотя и в меньшем количестве, также в почвах леса и степи.

Количественный учет микобактерий в почвах леса и степи нами не производился.

В почвах леса и степи встречается гораздо больше споровых форм бактерий, чем неспоровых. Особенно характерны в этом отношении почвы степи, которые чрезвычайно богаты спорообразующими видами бактерий. Здесь почти не встречается Pseudomonas radiobacter и сильно уменьшается число представителей рода Pseudomonas вообще и микобактерий.

Табл. 1, в которой приведены выборочные данные, наглядно подтверждает сказанное. Приводим результаты наблюдений осени 1951 г.

Приведенные данные достаточно убедительно показывают, что корневой системе дуба, почвам леса и степи свойственны вполне определенные микробные ценозы, хотя, конечно, почвенные условия, со своей стороны, оказывают определенное влияние. Так, например, пигментные формы в образцах Камышинского лесопитомника нигде не встречаются, тогда как в почвах дубовой балки, расположенной в 10—12 км севернее Камышина, они встречаются везде.

Состав грибной флоры в ризосфере и в почвах довольно однообразен. Особой специфики ее для корневой системы дубов нами не было подмечено. Правда, в отдельных случаях приходилось все же наблюдать наличие среди них доминирующих форм. В ризосфере дуба встречались такие грибные организмы, которые легко обнаруживались также и в почвах, особенно лесных.

Развитие грибных форм подвержено значительным сезонным колебаниям. В весенний период превалируют одни роды грибной флоры, в осенний — другие.

Для иллюстрации высказанного положения приводим данные анализов (табл. 2), полученные в 1951 г. В изучаемых образцах учитывались грибы, наиболее часто встречающиеся.

Как видно из таблицы, весенние образцы ризосферы и почв отличались большим богатством представителей рода Penicillium. Значительный интерес представляет факт почти полного отсутствия грибов рода Mucor в степных почвах, тогда как в лесах, расположенных около этих степей, они присутствуют.

Однако встречается этот гриб главным образом в ризосфере и лугово-каштановых почвах, богатых содержанием органического вещества и наиболее влажных, причем в ризосфере дуба он чаще встречается весной, а в почвах леса — осенью. Так, в почве Камышинского лесопитомника, относительно бедной органическими веществами и сухой, Mucor нами вовсе не был обнаружен. В то время как в почве Тингутинского лесхоза — лугово-каштановой Mucor встречается почти постоянно и в большом количестве. В отдельных случаях он здесь становится даже доминирующей формой.

Осенью ризосфера дубов и почвы часто изобилуют представителями рода Alternaria. Последние встречаются исключительно в конце вегетационного периода растений. Нам ни разу не приходилось наблюдать развитие этого гриба весной. Aspergillus почти полностью вытеснен из ризосферы дубов — весной он там ни разу не был обнаружен, а осенью встре-

Таблица 2

Количество грибов определенных родов в процентах от общего числа грибов

Место взятия проб	Название гриба	Ризосфера молодого дуба		Ризосфера взрослого дуба		Лес		Степь	
		Весна	Осень	Весна	Осень	Весна	Осень	Весна	Осень
Камышин (лесопитомник)	Penicillium	100	12,5	100	0	100	22,2	27,5	0
	Aspergillus	0	0	0	0	0	11,1	37,5	80,0
	Alternaria	0	87,5	0	64,0	0	60,0	0	20,0
	Fusarium	0	0	0	0	0	0	30,0	0
	Mucor	0	0	0	20,0	0	0	0	0
Дубовая балка близ совхоза „Пионер"	Penicillium	—	—	57,1	0	26,8	14,3	52,9	0
	Aspergillus	—	—	0	0	17,8	5,7	35,3	53,8
	Alternaria	—	—	0	100	0	51,4	0	46,1
	Fusarium	—	—	0	0	30,3	0	0	0
	Mucor	—	—	30,4	0	0	5,0	0	0
Сталинград (Григорова балка)	Penicillium	17,2	—	54,0	40,0	70,3	18,7	31,2	20,0
	Aspergillus	0	0	0	43,8	0	50,0	38,0	80,0
	Alternaria	0	33,3	0	12,8	0	0	0	0
	Fusarium	62,0	66,6	13,5	0	3,0	6,2	2,0	0
	Mucor	20,7	0	0	0	3,0	25,0	1,4	0
Тингута (степной лесхоз)	Penicillium	—	—	7,1	0	30,9	0	78,1	0
	Aspergillus	—	—	0	0	14,1	0	0	80,0
	Alternaria	—	—	0	0	0	0	0	20,0
	Fusarium	—	—	0	100	30,9	0	4,6	0
	Mucor	—	—	92,8	0	7,1	100	2,1	0

тился только однажды. Для Камышинского района (лесопитомник) он характерен лишь для почвы степи.

Группа Fusarium может быть названа «ризосферной», так как встречается в большом количестве только в ризосфере дубов. Интересно, что развитию этой группы способствуют какие-то особенности светлокаштановых почв (Сталинград, Тингута), ибо именно здесь мы находим их в большом количестве. Иногда в корневой системе дуба, кроме Fusarium, других грибов вовсе не удается обнаружить.

Фитопатогенные свойства выделенных видов Fusarium нами не исследовались, но, повидимому, они отсутствуют, так как дубки, в ризосфере которых обнаружены эти грибы, развиваются вполне нормально и не болеют. Можно даже предполагать, что такая тесная зависимость гриба и растения основана на каком-то биологическом приспособлении их друг к другу, обеспечивающем нормальное развитие обоих организмов.

При изучении показательных доминирующих форм бактерий мы остановились на споровых аммонификаторах, которые, согласно Мишустину [5], являются наиболее характерными для разных типов почв.

Группа Bac. mesentericus является наиболее распространенной в почвах этой зоны. В ризосфере дубов, произрастающих на светлокаштановых почвах (Сталинград, Тингута), встречается весьма интересная форма, которая была определена как Bac. mesentericus niger Migula. Bac. mesentericus niger был обнаружен также в лесной и степной почвах, однако в степи он встречался в несравненно меньшем количестве, чем в лесу.

Изучение в лабораторных условиях показало, что Bac. mesentericus

niger — весьма деятельный аммонификатор, обладающий большой протеолитической активностью. Можно предположить, что этот организм играет большую роль в разложении азотистых органических веществ растительных остатков в ризосфере и лесной почве изучаемых районов.

Кроме Bac. mesentericus niger, во всех образцах в большом количестве встречается обычная неокрашенная форма Bac. mesentericus, причем иногда в каштановой зоне почв (Камышин) она превалирует в степи, а в светлокаштановой — в ризосфере и в лесу.

Второе место по распространенности занимает Bac. megatherium. По данным Мишустина и др. [6], этот организм приурочен главным образом к почвам степной зоны. В наших образцах Bac. megatherium встречался в степи, в лесу и в ризосфере дуба. Однако максимальное число его клеток находится в степных почвах, несмотря даже на то, что эти почвы обладают различными физико-химическими свойствами.

Bac. subtilis представлен значительно беднее двух предыдущих. В ризосфере дуба этот организм не был найден. Среди представителей Bac. mesentericus и Bac. subtilis имеется много антагонистов по отношению к некоторым сапрофитным бактериям и грибам. Это, вероятно, имеет большое значение при формировании почвенных микробных ценозов.

Bac. mycoides относительно слабо представлен в почвах районов Камышин — Сталинград — Тингута. Его лишь изредка можно было встретить в анализированных образцах, причем он встречался почти исключи-

Таблица 3

Видовой состав доминирующих форм аммонифицирующих бактерий в процентах от общего числа бактерий

Место взятия проб	Общее количество бактерий	Бациллярные формы бактерий					
		Bac. mesentericus	Bac. mesentericus niger	Bac. megatherium	Bac. subtilis	Bac. mycoides	Bac. cereus
Камышин							
Ризосфера молодого дуба	$34 \cdot 10^8$	21,0	4,0	6,0	0	0	0
Ризосфера взрослого дуба	$54 \cdot 10^8$	10,0	0	6,0	0	0	0
Лес	$40 \cdot 10^7$	17,0	0	3,0	2,0	0	0
Степь	$43 \cdot 10^7$	16,0	0	9,0	0	0	0
Дубовая балка совхоза „Пионер"							
Ризосфера взрослого дуба	$37 \cdot 10^8$	11,0	0	5,0	0	0	0
Лес	$43 \cdot 10^7$	5,0	0	7,0	1,0	0	0
Степь	$36 \cdot 10^7$	18,0	2,0	10,0	5,0	0	0
Сталинград (Григорова балка)							
Ризосфера молодого дуба	$88 \cdot 10^8$	11,0	2,0	5,0	0	0	0
Ризосфера взрослого дуба	$59 \cdot 10^8$	5,0	0,0	3,0	0	7,0	8,0
Лес	$46 \cdot 10^7$	20,0	0	2,0	0	2,0	1,0
Степь	$45 \cdot 10^7$	16,0	0	18,0	0	0	0
Тингута (степной лесхоз)							
Ризосфера взрослого дуба	$21 \cdot 10^8$	20,0	5,0	0	0	0	0
Лес	$58 \cdot 10^7$	20,0	4,0	7,0	1,0	0	0
Степь	$57 \cdot 10^7$	11,0	1,0	23,0	1,0	0	0

тельно в ризосфере дубов и в почвах леса, в почвах степи он полностью отсутствовал.

Bac. cereus в изученных образцах представлен бедно. Он, так же как и Bac. mycoides, лишь изредка встречался в ризосфере дубов и в почвах леса. В степи он совершенно не был обнаружен. Интересно отметить, что оба эти организма выявлялись в одних и тех же образцах, как бы сопутствуя друг другу; притом осенью они встречались чаще, весною — реже. Для иллюстрации приводим табл. 3 — данные анализов осени 1951 г.

Значительный интерес представляют специфичные формы аммонификаторов, т. е. организмы, характерные только для ризосферы и определенной почвы — леса или степи. При изучении специфичных форм нами было выделено 30 штаммов; некоторые из них при идентификации по Берджи оказались штаммами одного и того же вида. Следует указать, что виды, встречавшиеся в лесу, часто обнаруживались и в ризосфере дубов. Для ризосферы дубов был установлен часто встречавшийся вид, близкий к Pseudomonas boreopolis; для леса — виды, близкие к Bac. aerosporus, Bac. asterosporus, Bac. danicus, Bac. teres; для степи — виды, близкие к Bac. petasites и Bac. ruminatus.

Таким образом, как ризосфера дуба, так и почва имеют свои особые формы бактерий. Корневая система дуба богата представителями рода Chromobacterium. Особенно в этом отношении характерны бактерии рода Pseudomonas — количество их в ризосфере во много раз больше, чем вне зоны корней.

Определенную специфику обнаруживали также грибы и споровые аммонификаторы.

Приношу глубокую благодарность А. Я. Мантейфель за руководство и ценные советы в работе.

Выводы

1. В ризосфере дубов богато представлены пигментные формы бактерий, причем в ризосфере старых дубов их значительно больше, чем в ризосфере двух-, трехлетних дубков. В лесных почвах пигментных бактерий также много, а в степных они обычно отсутствовали.

2. В ризосфере дуба в некоторых случаях значительное развитие получают микобактерии, количество которых иногда превышает 50% от общего числа бактерий. В лесных и степных почвах микобактерии распространены гораздо меньше.

3. Родовой состав грибной флоры в ризосфере дубов и в почвах довольно однообразный. Особой специфики ее для корневой системы этих деревьев не установлено. Отмечалась определенная сезонность в развитии грибов — весной в ризосфере богаче представлены виды рода Penicillium, осенью — виды рода Alternaria.

4. В ризосфере дуба хорошо развиваются представители рода Pseudomonas (Ps. rabiobacter, Ps. fluorescens и вид, близкий к Pseudomonas boreopolis). Из аммонификаторов довольно часто встречался Bac. mesentericus niger. Самым распространенным микроорганизмом в изученных образцах является обычная форма Bac. mesentericus.

Bac. megatherium чаще встречался в почвах степи, чем в лесу и ризосфере дубов. Видами Bac. subtilis анализированные образцы крайне бедны. Bac. mycoides и Bac. cereus наблюдались только изредка, и притом исключительно в ризосфере дубов и почвах леса. В почвах степи они не встречались.

5. Специфичными для ризосферы дуба, как было установлено, является штамм, близкий к виду Pseudomonas boreopolis; для почвы леса — штаммы, близкие к видам Bac. aerosporus, Bac. asterosporus, Bac. danicus,

Bac. teres; для почв степи — штаммы, близкие к видам Bac. petasites и Bac. ruminatus.

Биолого-почвенный факультет
Московского государственного
университета им. М. В. Ломоносова

Получено 1. IV. 1955 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Дараселия Н. А. Микрофлора ризосферы чайного куста. Бюлл. Всес. н.-иссл. ин-та чая и субтропических культур, № 3, 42, 1950.
2. Исакова А. А. Распространение азотобактера в ризосферах субтропических культур. Тр. Ин-та физиологии растений им. К. А. Тимирязева АН СССР, I, вып. 2, 265, 1937.
3. Красильников Н. А. Определитель бактерий и актиномицетов. Изд-во АН СССР, 1949.
4. Малышкин П. Е. Влияние почвенных микроорганизмов на рост дуба. Почвоведение, № 5, 280, 1951.
5. Мишустин Е. Н. Учение Докучаева — Костычева — Вильямса о почве и вопрос о составе микроорганизмов в растительных формациях. Микробиология, XIX, вып. 1, 11, 1950.
6. Мишустин Е. Н., Пушкинская О. И. и Мирзоева В. А. Микронаселение почвы и образование микоризы дуба. Тр. комплексной научной экспедиции по вопросам полезащитного лесоразведения, I, вып. 2, 352, 1951.
7. Образцова А. А. Микроорганизмы ризосферы некоторых субтропических растений: мандарина, тунго и чайного куста. Тр. Ин-та физиологии растений им. К. А. Тимирязева АН СССР, I, вып. 2, 213, 1937.
8. Пушкинская О. И. Материалы к характеристике микрофлоры почв дубовых лесов Теллермановского опытного лесничества. Тр. Ин-та леса АН СССР, VII, 158, 1951.

ЭКОЛОГИЯ И НЕКОТОРЫЕ МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ BAC. MEGATHERIUM

Е. П. Громыко

Спорообразующие бактерии вообще и в частности Bac. megatherium широко представлены в разных почвах и наряду с другими микроорганизмами принимают деятельное участие в процессах, протекающих в ней. Однако конкретная роль этой группы микроорганизмов мало выяснена.

Спорообразующие бактерии способны питаться весьма разнообразными соединениями, но, судя по литературным данным [6], многие спорообразующие бактерии начинают развиваться только тогда, когда неспорообразующими микробами подготовлено им определенное азотное питание. Так, в работе Мишустина [5] указано, что такие микроорганизмы, как Bac. idosus, Bac. megatherium, Bac. mesentericus, начинают интенсивно развиваться только тогда, когда в почве идет энергичный процесс нитрификации, так как эти виды, в отличие от других спорообразующих бактерий, используют не только органические, но и минеральные формы азота.

Целью настоящей работы было исследовать и сопоставить свойства культур Bac. megatherium, выделенных из почв различных географических точек Союза, и определить, имеет ли эта бактерия определенные экологические расы, отличающиеся морфологическими и физиологическими признаками, а также более детально изучить некоторые свойства этого организма. Нами было изучено свыше 100 культур.

По данным Мишустина [6], бациллы, в противоположность неспорообразующим видам, способны разлагать относительно сложные формы органических соединений, что он объясняет наличием у бацилл более мощного ферментного аппарата.

Bac. megatherium типичный, широко распространенный обитатель большинства почв, но распространен он весьма неоднородно в различных зонах и в различных типах почв. Определяющим фактором его развития является окультуренность почвы и энергия нитрификации.

В подтверждение сказанного приведем выборку из данных Отдела почвенных микроорганизмов Института микробиологии АН СССР по распространению Bac. megatherium в различных почвах (табл. 1).

Как видно из табл. 1, в северных зонах спорообразующие бактерии вообще и в частности Bac. megatherium представлены менее богато, чем в южных. В более южных районах количество их увеличивается. Указанная закономерность объясняется возрастанием процесса минерализации органического вещества и нитрификации по мере продвижения с севера на юг. Окультуривание почв, как правило, также увеличивает процентное содержание Bac. megatherium в почве.

Изучение распространения Bac. megatherium по разрезу разных почв показало, что основная его масса находится в пахотном слое, в то время как другие спорообразующие бактерии (например, Bac. cereus) проникают в более глубокие слои.

Из литературных данных [1] следует, что в ризосфере культурных растений Bac. megatherium встречается в незначительном количестве. Число его несколько возрастает к осени, в период отмирания корней.

Таблица 1

Количество спор Bac. megatherium в различных почвах

(В тысячах на 1 г почвы)

Исследованные почвы	Количество спор	
	общее	Bac. megatherium
Тундра		
Целинные арктические почвы	4	Единичные
Лесо-луговая зона		
Лесные почвы	100	„
Луговые целинные почвы	140	20
Окультуренные почвы	430	150
Луговая степь и степь (северная зона)		
Серые лесные почвы	200	40
Окультуренные почвы	400	160
Луговая степь и степь (черноземы средней и южной зоны)		
Целинные почвы	800	200
Окультуренные почвы	1200	400
Сухая и пустынная степь (каштановые почвы)		
Целинные почвы	600	80
Окультуренные почвы	1200	300
Пустыня (сероземы)		
Целинные почвы	800	200
Окультуренные почвы	1500	300

Таблица 2

Распространение Bac. megatherium в разных горизонтах почвы

(В тысячах на 1 г сухой почвы)

Глубина в см	Чернозем (Курская обл.)				Каштановая почва (Саратовская обл.)			
	Май		Сентябрь		Поле № 5		Поле № 2	
	Общее число спор	% спор Bac. megatherium	Общее число спор	% спор Bac. megatherium	Общее число спор	% спор Bac. megatherium	Общее число спор	% спор Bac. megatherium
0—10	2015	18,0	2940	15,9	3040	34,0	2374	44,5
10—27	3099	15,7	2340	14,1	2143	29,8	1600	53,6
27—40	1622	4,6	1660	7,8	420	15,7	620	19,5
40—60	884	2,5	940	2,1	261	4,2	85	0

Нами была исследована ризосфера некоторых многолетних трав в летний и осенний периоды, произрастающих на подзолистой почве Московской области (табл. 3).

Из приведенного материала видно, что клетки Bac. megatherium в начале лета почти не встречаются в ризосфере многолетних трав и появ-

Таблица 3

Количество спор Bac. megatherium в ризосфере многолетних трав в июне и октябре
(Моск. обл.; в тысячах на 1 г почвы)

Многолетние травы	1.VI		7.X	
	Общее число спор	% спор Bac. megatherium	Общее число спор megatherium	% спор Bac. megatherium
Костер	625	4	100	25,0
Полевица	700	0	275	18,1
Тимофеевка . . .	700	0	1230	3,1
Ежа	760	0	700	4,2

ляются в довольно большом количестве осенью. Осенью, в период отмирания корней, обычно возрастает общее количество микроорганизмов, которое идет главным образом за счет неспорообразующих форм. Объясняется это, повидимому, поступлением в почву новых порций органических веществ. Однако при изучении пшеницы и клевера мы обнаружили значительное число клеток этого организма и в летний период. Количество клеток его здесь достигло 13% от общего числа спороносов. Приведенные данные говорят о том, что развитие Bac. megatherium на корнях растений определяется еще и видом растения.

Изучаемые нами культуры Bac. megatherium были выделены из некоторых почв северной, южной и средней полос СССР. Изучались морфологические и физиологические свойства данного микроорганизма.

Известно, что многие организмы имеют экологические расы, резко отличающиеся между собой по культуральным, морфологическим и физиологическим свойствам. Подобная закономерность была установлена Мишустиным [5] для почвенного микроба Bac. mycoides. Было показано наличие определенных географических рас у этого организма, которые отличались между собой размером клетки, структурой колоний и рядом физиологических признаков. В настоящей работе кратко излагаются материалы, полученные нами при изменении культур Bac. megatherium, выделенных из разных почв.

Колонии Bac. megatherium наиболее характерно развиваются на среде, состоящей из смеси мясопептонного агара с сусло-агаром (1 : 1) (рис. 1). Они здесь мощные, жирно-блестящие, слизистые, гладкие, реже складчатые или с шероховатой поверхностью и по внешнему виду резко отличаются от других видов спорообразующих бактерий. Цвет колоний на этой среде, как правило, кремово-белый или кремово-серый, встречаются также желтые колонии. Складчатость и шероховатость колоний проявляется спустя 3—5 дней после посева. Складчатость бывает радиальная, концентрическими кругами; иногда складки расположены в неопределенном направлении.

Форма колоний круглая или слегка продолговатая, с резко очерченным краем, но иногда у складчатых форм он бывает слегка волнистым. При малом увеличении микроскопа на краю колонии хорошо видны отдельные бактерии. Клетки данной группы бацилл имеют весьма типичное расположение. Они обычно лежат своей длинной осью параллельно окружности, и иногда часть клеток расположена в радиальном направлении.

На МПА без добавления сусло-агара колонии Bac. megatherium менее характерны. Клетки меньших размеров, колонии, как правило, слизистые или влажные, серого и серовато-белого цвета. Край колоний не типичен.

Клетки Bac. megatherium крупные, длина их колеблется от 4,6 до 8,4 μ, ширина от 1,4 до 2,2 μ (табл. 4). Измерение клеток производилось у полу-

суточной культуры, выросшей на МПА, при помощи винтового окуляр-микрометра.

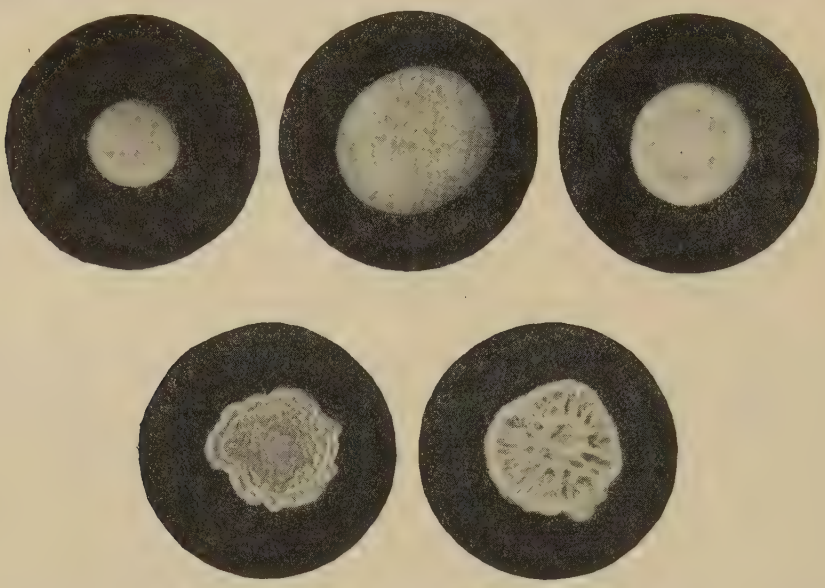


Рис. 1. Колонии бактерий Bac. megatherium на МПА с сусло-агаром (1 : 1)
Верхний ряд — гладкие формы; нижний ряд — складчатые формы

Новогрудским [7] были установлены определенные биотипы Bac. mycoides. Культуры Bac. mycoides автор разделяет по ширине клеток на три группы: тонкие, средние и толстые. Между тонкими, средними и толстыми

Таблица 4

Морфологические показатели исследованных культур Bac. megatherium

Место выделения культуры	Размер клеток в μ		Группа бактерий (по размеру клеток)	Размер спор в μ	
	длина	ширина		длина	ширина
Юг	5,6	1,4		1,6	0,8
„	4,6	1,5	I	—	—
„	5,8	1,4		1,9	1,0
Север	6,8	1,8		—	—
Север	7,4	1,8		1,9	1,0
Средняя полоса	6,8	1,7	II	—	—
Юг	7,4	1,8		1,6	0,9
„	7,2	1,7		—	—
Средняя полоса	3,8	2,2		1,9	1,0
„ „	7,2	2,1		1,8	1,0
Север	5,0	2,1		—	—
Средняя полоса	6,9	2,2		1,5	0,98
„ „	5,0	2,1	III	1,7	1,0
Север	6,6	2,1		—	—
Средняя полоса	6,2	1,9		—	—
Юг	6,9	2,1		1,9	1,0
Средняя полоса	8,4	2,2		1,8	1,1
Север	7,3	2,1		—	—

Примечание. Юг (Азербайджан) — бурые почвы; север (п-ов Таймыр) — тундровые арктические почвы; средняя полоса (Московская область) — подзолистые почвы.

формами Bac. mycoides имеется ряд физиологических и морфологических различий.

Мишустиным [4] у Bac. mycoides установлены экологические расы, которые отличаются между собой морфологическими и, главным образом, физиологическими признаками. По существу им был подтвержден установленный Новогрудским факт о наличии у Bac. mycoides биотипов, отличающихся по ширине клеток.

Нашими исследованиями групп Bac. megatherium обнаружено, что клетки данного организма по ширине их можно также разделить на три группы: I группа имеет клетки с шириной от 1, 4 до 1,5 μ; II группа — от 1,7 до 1,9 μ и III группа — от 2,1 до 2,2 μ. Длина клеток Bac. megatherium может сильно варьировать. Таким образом, можно говорить о наличии у этого вида бацилл клеток толстых, средних и тонких (табл. 4).

В природе, судя по нашим исследованиям, распространены преимущественно виды с клетками II и III групп, причем чаще встречаются культуры III группы. Микробы же с клетками I группы встречаются редко (табл. 4). Создается впечатление, что культуры Bac. megatherium I группы наиболее распространены в южных почвах, а III — в северной зоне. Отмеченные типы Bac. megatherium не отличаются существенно по тем физиологическим культурным признакам, которые были изучены нами.

Рис. 2. Жгутики. Bac. megatherium (под электронным микроскопом)

Клетки молодых культур Bac. megatherium имеют вид правильных или слегка изогнутых палочек гомогенной структуры, обычно с округлыми концами. В старых культурах клетки несколько меняют форму: они бывают несколько укорочены с округлыми и часто суженными концами, с грубой грануляцией, что очень характерно для данного вида.

Клетки у Bac. megatherium подвижные, одиночные или соединенные в короткие цепочки, чаще по четыре клетки, реже по 8—10. Движение осуществляется при помощи жгутиков, которые хорошо видны в электронном микроскопе (рис. 2). Они во много раз длиннее клетки и расположены по всей ее поверхности. Движения Bac. megatherium бывают качающиеся или круговые. Изредка при движении наблюдаются изгибы самой клетки.

Через одни сутки после пересева культуры на МПА начинается спорообразование. Расположение спор в клетке полярное или они несколько сдвинуты к центру. Споры имеют овальную или бобовидную форму. При выращивании культуры на МПА размер спор: длина от 1,5 до 1,9 μ, ширина от 0,8 до 1,1 μ.

На МПА с суслом спорообразование происходит позднее. Де Ионг (De Jong [9]) указывает, что при культивировании Bac. megatherium на 10%-

ном пептонном агаре часть клеток не образует спор в течение нескольких дней. Размножается Bac. megatherium поперечным делением клетки на две дочерние. Однако имеются данные [3] о том, что у этого организма возможно деление клетки одновременно на три и более дочерние, а также размножение почкованием по типу дрожжей.

Таблица 5

Размер колоний Bac. megatherium на МПА при различных температурах (в сантиметрах; через четверо суток)

Место выделения культуры	27°	37°	45°
Юг	0,5	1,0	0,3
	1,2	2,0	0,4
	0,6	0,6	0,4
	0,5	0,8	0,2
	0,9	1,0	0,5
Средняя полоса	0,7	1,0	0,5
	0,7	2,0	0,1
	1,1	0,6	0,2
	0,6	0,9	0,2
Север	0,8	0,9	0,2
	0,5	0,8	0,3
	0,7	1,0	0,3

Bac. megatherium является аэробным микроорганизмом. В анаэробных условиях растет очень медленно и рост весьма скудный, причем из посеянной густой суспензии вырастают только отдельные колонии. Культуры, которые продолжительное время содержатся в лаборатории, в анаэробных условиях не развиваются.

Оптимальная температура развития Bac. megatherium при посеве на МПА 37°, о чем мы заключаем по размеру колоний, выросших при температурах 27, 37 и 45° (табл. 5). Только некоторые из культур Bac. megatherium предпочитают температуру 27°. Все испытанные нами культуры Bac. megatherium дают рост и при 45°, но развитие при этом замедлено. При температуре 53° развиваются только некоторые клетки, и рост у них весьма скудный, едва заметный (табл. 6).

Как видно из табл. 6, культуры, выделенные из почв различных точек Союза, развиваясь при разных температурах, не обнаружили какой-либо специфики. Этот факт согласуется с представлениями Мишустина [6], который выдвигает положение, что характер приспособительной реакции микроба к температуре определяется его ролью в почвенном процессе. Микроорганизмы, вступающие во вторую и последующие стадии минера-

Таблица 6

Развитие Bac. megatherium при различных температурах

Место выделения культуры	20°	27°	37°	40°	45°	49°	53°
Юг	+++	+++	+++	+++	+++	+	+
	+++	+++	+++	+++	+	+	—
	+++	+++	+++	+++	+++	+	+
	+++	+++	+++	+++	++	+	+
	+++	+++	+++	+++	+++	++	—
	+++	+++	+++	+++	+++	+	+
Средняя полоса .	+++	+++	+++	+++	+	+	+
	+++	+++	+++	+++	+++	+	+
	+++	+++	+++	+++	+++	—	—
	+++	+++	+++	+++	++	+	—
	+++	+++	+++	+++	+++	++	+
	+++	+++	+++	+++	+++	+	+
Север	+++	+++	+++	+++	+++	+	—
	+++	+++	+++	+++	+++	+	+
	+++	+++	+++	+++	++	+	—
	+++	+++	+++	+++	+++	+	+
	+++	+++	+++	+++	++	+	+

Примечание. + — слабое развитие; ++ — среднее развитие; +++ — хорошее развитие; — нет развития.

лизации органического вещества и утилизирующие их остатки, не показывают приспособительной реакции к температуре.

Bac. megatherium является типичным аммонификатором. При посеве его на МПА он энергично разлагает органические вещества с интенсивным выделением аммиака. Прекрасно развивается на среде Гильтая и редуцирует нитраты. На агаризованной среде Гетчинсона не развивается и клетчатку не разрушает. Все испытанные нами культуры разжижали желатину.

Цвет колоний на желатине примерно одинаковый у всех культур — беловато-кремовый или беловато-серый. Культуры Bac. megatherium дают характерный рост на картофельном агаре. Здесь по истечении 7—10 дней агар приобретает коричневато-бурую окраску.

При посеве данных бактерий на кусочек картофеля последний спустя 7—10 дней темнеет. Первоначальный рост на картофеле у большинства культур складчатый. Поверхность штриха сухая или влажная и редко слизистая. Спустя восемь суток, как правило, складчатость исчезает и культура делается слизистой или влажной. Цвет штриха — от серого до молочнобелого. Нередко встречаются желтоокрашенные формы.

На МПБ Bac. megatherium растет хорошо, пленку не образует, а дает осадок и муть. Осадок хлопьевидный. Сероводород и индол не образует.

На МПБ с 5%-ной глюкозой Bac. megatherium развивается так же, как и на одном МПБ, без глюкозы, но рост при наличии сахара несколько более интенсивный. Газа не образует. Среду подкисляет.

Де Ионг [9] показала, что при добавлении в среду больших доз глюкозы развитие данного организма не прекращается, но приостанавливается рост других групп микроорганизмов. На этом основании автор предложил метод выделения Bac. megatherium на пептонной среде с добавлением 40% глюкозы.

Bac. megatherium молоко свертывает, пептонизирует и подкисляет.

Лемуань (Lemoigne [10]) отмечает, что Bac. megatherium использует азот нитратов, как единственный источник азота.

По данным Красильникова [2] Bac. megatherium на синтетических средах с минеральным азотом не развивается.

По нашим данным, все испытанные нами культуры растут на средах с минеральным азотом.

Тимофеева [8] указывает, что изученные ею культуры Bac. megatherium не гидролизуют крахмал. Все испытанные нами культуры хорошо растут на крахмало-аммиачной среде (несколько хуже, чем на МПА) и гидролизуют крахмал с образованием мальтозы и декстрина.

Нами было изучено отношение Bac. megatherium к различным сахарам — мальтозе, глюкозе, рафинозе, галактозе, арабинозе, лактозе, левулозе и сахарозе. На этих сахарах организм хорошо развивается и сбраживает их с подкислением среды. Исключением для большинства культур являются галактоза и лактоза, особенно мало доступна им лактоза. Судя по отношению ряда культур Bac. megatherium к испытанным сахарам по их ферментативной активности, эти культуры близки между собой.

Выводы

1. Bac. megatherium является широко распространенным представителем почвенных микроорганизмов. Однако его распространение не одинаково в различных зонах Союза. Почвы севера относительно беднее этим микробом. По мере продвижения на юг удельный вес Bac. megatherium в составе бациллярного населения почвы возрастает.

2. Окультуренность почвы способствует развитию Bac. megatherium. В окультуренных почвах число зародышей этого организма значительно больше, чем в целинных.

3. Основная масса клеток Bac. megatherium находится в верхнем слое

почвы. В более глубоких слоях почвы количество их (как абсолютное, так и относительное к общему числу микроорганизмов) резко уменьшается.

4. В ризосфере Bac. megatherium встречается в меньшем количестве, чем в почве. В осенний период число клеток Bac. megatherium значительно больше, чем в весенний. Распространение этого бацилла в ризосфере определяется не только периодом вегетации, но и видом растения.

5. Bac. megatherium дает характерные колонии на среде, состоящей из мясопептонного агара и сусла (1 : 1), где они резко отличаются от других видов бацилл. Данную среду целесообразно использовать для диагностических целей.

6. В работе описаны морфологические и культуральные особенности культур Bac. megatherium. Этот организм является типичным аммонификатором. Растет на синтетических средах с минеральным азотом и гидролизует крахмал.

7. Культуры Bac. megatherium, выделенные из различных почв, могут быть разбиты на несколько групп, отличающиеся между собой по ширине клетки. В почвах отдельных зон наиболее часто встречаются определенные типы Bac. megatherium.

8. Культуры Bac. megatherium, выделенные из различных зон — северной, южной и средней полосы Союза, обладали сходными свойствами.

Институт микробиологии
Академии наук СССР
Москва

Получено 17. I. 1955 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Красильников Н. А., Крисс А. Е. и Литвинов М. А. Микробиологическая характеристика ризосферы культурных растений. Микробиология, V, вып. 1, 1936.
2. Красильников Н. А., Определитель бактерий и актиномицетов. Изд-во АН СССР, М., 1949.
3. Кудрявцев В. И. К вопросу о полиморфизме бактерий. Новые формы развития Bac. megatherium. Изв. АН СССР, № 9, 1301, 1932.
4. Мишустин Е. Н. Эколого-географическая изменчивость почвенных бактерий. М.—Л., 1947.
5. Мишустин Е. Н. Учение Докучаева — Костычева — Вильямса о почве и вопрос о составе микроорганизмов в растительных формациях. Микробиология, XIX, вып. 1. 11, 1950.
6. Мишустин Е. Н. Закон зональности и учение о микробных ассоциациях почвы. Усп. совр. биологии, XXXVII, вып. 1, 1954.
7. Новогрудский Д. и Кононенко Е. Об основных формах Bac. mycoides и их взаимоотношениях. Микробиология, IV, вып. 1, 4, 1935.
8. Тимофеева А. Г. Физиологические особенности аэробных спороносных бактерий почвы. Диссертация. М., 1952.
9. De Jong. Studien über Bacteriofagie. 1. Über Bac. megatherium und den darin anwesenden Bacteriophagen. Ztrbl. Bakt., I. Orig., 120, 1, 1931.
10. Lemoigne M., Qavard R., Crosch M. et Treis M. Sur l'utilization de l'azote nitrique par les bacteries du genre Bacillus. Ann. Inst. Pasteur, 73, 725, 1947.

ИЗУЧЕНИЕ ПРИЧИН, ЗАДЕРЖИВАЮЩИХ РАЗВИТИЕ МИКРООРГАНИЗМОВ В ТОЛЩЕ ИЛОВЫХ ОТЛОЖЕНИЙ В ОЗЕРЕ БИСЕРОВО

Н. Б. Заварзина

Изучение распространения микроорганизмов в толще иловых отложений озер различной степени трофии (Штурм и Канунникова [15], Кузнецов [6] и др.) показало, что наиболее населенным слоем является граница соприкосновения воды с илом. При углублении в ил уже на 1—2 см численность бактерий заметно падает (Карзинкин и Кузнецов [4]) и наиболее резкое снижение наступает на глубине около 100 см. Но все же количество бактерий, обнаруживаемых в илах методом прямого счета, достигает на глубине 500—800 см от поверхности ила 200—300 млн. на 1 г сырого ила.

Количество бактерий, растущих на МПА, с глубиной падает еще более резко, несмотря на большое содержание органического вещества. Уменьшение числа бактерий объясняется или отсутствием легко усвояемого органического вещества в иловых отложениях (Кузнецов [5]), или же наличием «вредных продуктов обмена» (Омелянский [9]).

Пельш [10] считал, что консервирующее действие продуктов диссимиляции сказывается уже на глубине 20 см от поверхности ила.

Однако в последнее время Калиненко [3] высказал сомнение в правильности вышеприведенных данных, указывая на недостоверность методики прямого счета.

Таким образом, в литературе нет единой точки зрения на причины закономерного распределения микроорганизмов и задержку окончательного распада органического вещества в иловых отложениях.

В настоящей работе, по предложению С. И. Кузнецова, нами была сделана попытка, во-первых, проверить на примере озера Бисерово достоверность учета общего количества бактерий в иле, видоизменив методику прямого счета; во-вторых, применив метод двойной окраски по Пешкову [11], выяснить соотношение живых и мертвых бактериальных клеток, методом прямого счета, и, в третьих, обнаружить в толще ила вещества, подавляющие развитие микроорганизмов.

Исследования проводились на озере Бисерово евтрофного типа, расположенном в 35 км от Москвы по Горьковской ж. д. Это озеро имеет мощный слой мелкодетритного ила с очень рыхлой консистенцией. Кроме того, для определения антибиотических веществ были взяты образцы ила из озера Вийсяаги (близ гор. Тарту ЭССР).

Методика

Пробы ила для анализа отбирались поршневым буром системы Сукачева. Для микробиологических исследований ил из середины монолита засасывался в стерильную стеклянную трубочку и в таком виде доставлялся в лабораторию. Поверхностный слой ила отбирался в стеклянные трубки, вставляемые в стратометр Карзинкина.

Для получения антибиотических веществ из ила была использована методика Ваксмана (Waksman a. Woodruff [17]), которую он применил при изучении почвы.

1 кг сырого ила высушивался на воздухе при комнатной температуре, затем экстрагировался в аппарате Сокслета последовательно 1) серным эфиром, 2) 96%-ным спиртом и 3) дестиллированной водой. В случае эфирной вытяжки эфир выпаривался и сухой остаток переводился в спирт, из расчета 5 мг на 1 мл спирта. Спирт из спиртовой фракции также удалялся, а остаток вновь растворялся в небольшом объеме спирта или

воды в такой же пропорции — 5 мг/1 мл. Для внесения в питательные среды спиртовой раствор разводился стерильной водой в отношении 1 : 10, и уже эта эмульсия вносилась в среды с таким расчетом, чтобы конечная концентрация была 0,1 мг/мл; 0,03 мг/мл и 0,01 мг/мл.

На жидких средах присутствие антибиотических веществ выявлялось методом титрования, а на агаризованных средах в чашках Петри — по интенсивности роста испытуемых организмов.

Были также использованы метод «комочков», предложенный Волковой и Балабановой [2], и метод «цилиндриков», применяемый при испытании антибиотиков.

Кроме того, для обнаружения бактерицидных веществ в эфирном и спиртовом экстрактах ила мы использовали метод бумажной хроматографии, который применяется при разделении пенициллинов (Блок, Лестранж и Цвейг [1]). В качестве растворителя использовался серный эфир и 96°-ный спирт. Испытание производилось в чашках Петри на твердых питательных средах, засеянных испытуемым организмом. На поверхность агара накладывались отрезки бумажной хроматограммы в 1 см шириной; активность вещества определялась по величине зон. Для контроля применялись кусочки бумаги, пропитанные растворителем и затем высушенные. Тест-объектами служили те сапрофитные микроорганизмы, которые были выделены из поверхностного слоя. При этом мы исходили из предположения, что отсутствие этих организмов на больших глубинах могло быть вызвано веществами типа антибиотиков, скопляющихся в глубинных слоях ила. Кроме того, в качестве тест-культур были использованы Sarcina lutea, Bac. subtilis, Bac. mycoides, Bac. megatherium и Staph. aureus[1], которые, по данным Ваксмана, оказались чувствительными к антибиотическим веществам почвы.

Для определения легко усвояемых органических веществ, которые могли бы служить источником питания для микроорганизмов, были поставлены опыты с образцами ила из оз. Бисерово, взятыми с поверхности и с глубины 400 см. Опыты были поставлены в трубках Дунбара по следующей схеме:

1. Болтушка ила на стерильной водопроводной воде (контроль).
2. То же + глюкоза (2,5%).
3. То же + пептон (0,75%).

Интенсивность брожения определялась по количеству газа в запаянном конце трубки Дунбара (Кузнецов [5]).

Образование пузырьков газа в контроле указывало, что в иле содержится достаточное количество усвояемых органических веществ; если же брожение происходило только при добавке глюкозы или пептона, то это говорило о недостатке для развития микроорганизмов углеводов или белковых веществ.

Общее количество бактерий в иле в основном учитывалось прямым счетом на мембранных фильтрах. Для этого болтушка из 1 г сырого ила в 0,0004 N растворе NaOH центрифугировалась несколько раз для отмывания бактерий от частиц ила и объем центрифугата доводился до 100 мл. (Приготовление болтушки ила подробно описано в книге Кузнецова [7] на стр. 63.) При изготовлении препаратов 1 мл приготовленного таким образом центрифугата фильтровался через мембранный фильтр ($R = 0{,}5$ см), окрашивался эритрозином и определенная площадь фильтра просчитывалась под микроскопом (при увеличении в 900 раз).

Для контроля бактериального загрязнения мембранных фильтров два фильтра из пачки были окрашены и просчитаны. Загрязнение фильтров было принято во внимание, и при вычислении количества бактерий в 1 г ила внесены соответствующие поправки.

Определение живых и мертвых клеток проводилось при помощи двойной окраски по Пешкову [11]. С этой целью 1/20 мл иловой болтушки, которая была приготовлена для фильтрования через мембранные фильтры, размазывалась на площадь в 4 см^2 предметного стекла, препарат фиксировался смесью Карнуа и окрашивался краской Гимза (азур II — эозин), затем докрашивался лихтгрюном. Параллельно приготовлялись такие же препараты, окрашенные эритрозином.

Таким образом мы имели для сравнения препараты, приготовленные из одной и той же порции иловой болтушки: 1) окрашенные эритрозином, на мембранных фильтрах, 2) окрашенные эритрозином на предметных стеклах, и 3) окрашенные по Пешкову на предметных стеклах. Препараты просчитывались с окулярной сеткой и с иммерсионным объективом. Для поправки на загрязнение препарата просчитывался свободный край стекла.

Препараты для прямого счета готовились на следующий день после отбора образцов. Пробы сохранялись в течение ночи в холодильнике.

Количественный учет и определение процентного соотношения живых и мертвых бактерий

Учет вертикального распределения бактерий в иловых отложениях оз. Бисерово микроскопическим методом по Германову провел Экзерцев [16].

[1] Bac. subtilis, Bac. megatherium и Bac. mycoides встречаются в большом количестве в верхнем слое ила оз. Бисерово.

Ввиду того что Калиненко [3] и некоторые другие авторы указывают на большую ошибку, происходящую при просчете препаратов, приготовленных по методу Германова, мы использовали кроме того метод мембранных фильтров.

Учитывая возможность бактериального загрязнения мембранных фильтров (Рукина и Бирюзова [13]), мы, следуя рекомендации Разумова [12], подобрали для фильтрования такой объем болтушки ила, при котором в поле зрения было не меньше 100—150 бактерий. Следовательно, возможная ошибка от загрязнения фильтров не превышала 10%, т. е. была ниже предела, допустимого при биологических исследованиях. Кроме того, бактериальная загрязненность мембранных фильтров и предметных стекол учитывалась, и в окончательные расчеты, как это указано выше, вносилась соответствующая поправка.

В табл. 1 представлены для сравнения результаты подсчета бактерий, полученные в 1946 г. Экзерцевым и нами в 1954 г.

Таблица 1

Вертикальное распределение бактерий в иле оз. Бисерово

Глубина в см	Количество бактерий в миллионах в 1 г сырого ила по данным микроскопического учета		Количество бактерий в тысячах в 1 г сырого ила по росту на МПА	
	Данные от 6.IX.1946 г. (на предметных стеклах)	Данные от 29.XII.1954 г. (на мембр. фильтрах)	Данные от 6.IX.1946 г.	Данные от 29.XII.1954 г.
Поверхностный ил	740	690	15	3,2
100	347	362	4	1,6
200	347	317	1,2	1,15
300	283	314	1,1	1,5
400	228	287	0,51	1
500	192	—	0,22	—

Несмотря на то, что анализы были проведены с интервалом в восемь лет и были применены различные методики учета, мы получили данные, позволяющие судить о постоянстве количества бактерий, обнаруживаемых при окраске эритрозином, по всем исследованным горизонтам. Далее, для сравнения различных методов учета бактерий мы провели анализ на одних и тех же образцах ила, взятых 7 февраля 1955 г. (табл. 2).

Таблица 2

Вертикальное распределение бактерий в иловых отложениях оз. Бисерово (в миллионах на 1 г сырого ила) 7 февраля 1955 г.

Глубина в см	Учет количества бактерий на мембранных фильтрах, окрашенных эритрозином	Учет количества бактерий методом Германова на предметных стеклах		
		Окраска эритрозином	Окраска по Пешкову	% живых клеток от общего числа бактерий*
Поверхностный ил	499	612	545	66
	380	359	452	61
	360	279	332	56
	346	366	305	
	226	213	200	

* Окрашенных по Пешкову.

Как видно из табл. 2, при сравнении итогов счета различно обработанных препаратов мы получили очень близкие результаты не только в пределах образцов от 7 февраля 1955 г., но и при сопоставлении с образцами, взятыми 29 декабря 1954 г. и Экзерцевым в 1946 г. Это убеждает нас в достоверности данных исследований Экзерцева, Кузнецова и др., применявших метод Германова для учета бактерий в иловых отложениях.

При микроскопировании препаратов ила, обработанных красками Гимза + лихтгрюн, обнаруживается большое количество бактерий, окрашенных в зеленый цвет. Согласно исследованиям Пешкова [11], эта окраска связана с отсутствием ядерного вещества, которое исчезает из клеток после их смерти. Поэтому клетки, окрашенные в лиловато-красный цвет, учитывались нами как живые, а зеленые — как мертвые. Окраска эритрозином не дает возможности провести такую дифференциацию.

Методика эта была проверена Лазаревой [8], которая показала, что в клетках бактерий, убитых нагреванием, уже через 2—4 часа ядерное вещество при окрашивании не обнаруживается.

Интересно отметить, что в препаратах или преимущественно с глубины 300 и 400 см от поверхности, некоторые «зеленые клетки» окрашивались лихтгрюном очень слабо и при заключении в иммерсионное масло становились совершенно невидимыми.

Это явление особенно четко наблюдалось на нитевидных организмах, сохранившиеся оболочки которых, повидимому, наполнены веществом, обладающим коэффициентом преломления, близким к коэффициенту преломления иммерсионного масла. Очень часто встречались скопления сильно раздутых крупных клеток почти бочкообразной формы, на концах которых сконцентрировано вещество, более сильно воспринимающее краску. «Живые клетки», т. е. окрашенные в лиловато-красный цвет, в большинстве своем были прикреплены к кусочкам детрита, обломкам диатомей и т. п., тогда как «зеленые клетки» лежали свободно.

Весьма вероятно, что процент «мертвых» клеток на препаратах, приготовленных из центрифугата ила, несколько преувеличен, в силу того, что «живые» бактерии более прочно связаны с тяжелыми частицами и потому остаются в осадке.

Однако закономерность увеличения процента мертвых клеток по мере углубления в ил позволяет сделать вывод, что общее число мертвых клеток в глубоких слоях превышает число живых бактерий.

Это наблюдение отчасти объясняет разрыв в количестве бактерий, обнаруживаемых прямым счетом и счетом на питательных средах.

Опыты по обнаружению веществ, подавляющих развитие бактерий в глубинных слоях ила

Переходя к причинам задержки развития микроорганизмов и, следовательно, разложения органического вещества в глубинных слоях ила, мы в первую очередь пытались обнаружить вещества типа антибиотиков. С этой целью мы использовали некоторые методы, применяемые для выделения антибиотических веществ из почв и лечебных грязей.

При экстрагировании ила эфиром в аппарате Сокслета получался экстракт темнобурого цвета. После удаления эфира оставалась клейкая маслянистая масса, почти черного цвета, с очень сильным специфическим запахом, плохо растворимая в спирте и не растворимая в воде.

Как видно из табл. 3, вещества, извлекаемые из ила эфиром и спиртом, вызывали некоторое подавление развития только у Sarcina lutea. Водный экстракт не оказал никакого действия ни на один из испытанных организмов, и потому в дальнейшем мы его не испытывали.

Не удалось обнаружить подавления развития указанных организмов и при «титровании» в МПБ с концентрацией илового экстракта 0,2 мг/1 мл.

Применение еще других растворителей (кроме эфира, спирта и воды), употребляемых для извлечения антибиотических веществ из лечебных грязей (Шинкаренко [14]), нам казалось излишним, так как труднорастворимые вещества вряд ли могут иметь значение в естественных условиях.

Таблица 3

Влияние иловых экстрактов на развитие бактерий в иловых отложениях оз. Бисерово (развитие микроорганизмов на МПА с добавкой иловых вытяжек; инкубация при 27°)

Испытуемые организмы	Через 1 сутки										Через 4 суток						
	Вытяжки мг/мл										Вытяжки мг/мл						
	эфирная				спиртовая			водная			эфирная				спиртовая		
	0	0,1	0,03	0,01	0,1	0,03	0,01	0,1	0,03	0,01	0	0,1	0,03	0,01	0,1	0,03	0,01
Sarcina lutea	+	—	0	+	0	0	+	+	+	+	+	0	0	+	+	+	+
Bac. subtilis	+	+	+	+	+	+	+				+	+	+	+	+	+	+
Bas. mycoides	+	+	+	+	+	+	+				+	+	+	+	+	+	+
Bac. megatnerium	+	+	+	+	+	+	+				+	+	+	+	+	+	+
№ 1	+	+	+	+	+	+	+				+	+	+	+	+	+	+
№ 2	+	+	+	+	+	+	+				+	+	+	+	+	+	+
№ 3	+	+	+	+	+	+	+				+	+	0	0	0	0	+
№ 4	+	+	+	+	+	+	+				+	+	+	+	0	0	0
№ 5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
№ 6	+	0	0	+	+	+	+				+	+	+	+	+	+	+
№ 7	+	+	+	+	+	+	+				+	+	+	+	+	+	+
№ 8	+	+	+	+	+	+	+				+	+	+	+	+	+	+
№ 9	+	+	+	+	0	+	+				+	+	+	+	+	+	+
№ 10	+	+	+	+	+	+	+				+	+	+	+	+	+	+
№ 11	+	+	+	+	0	0	+				+	+	+	+	+	+	+
№ 12	+	+	+	+	+	+	+				+	+	+	+	+	+	+
№ 13	+	0	0	+	0	0	0	+	+	+	+	+	+	+	0	0	0
№ 14	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Гл. № 1	+	+	+	+	0	+	+				+	+	+	+	+	+	+
Гл. № 2	+	+	+	+	+	+	+				+	+	+	+	+	+	+

Примечание. Гл. № 1 и гл. № 2 — культуры организмов, выделенных с глубины 400 см от поверхности ила; + — хороший рост; 0 — слабый рост; — отсутствие роста.

Затем нами была сделана попытка произвести разделение веществ, извлекаемых из ила, при помощи бумажной хроматографии, с тем, чтобы выделить действующий компонент и освободить его от маскирующего влияния остальной части вытяжки. Получить хроматограммы с отчетливо видным разделением веществ, растворимых в эфире и спирте, не удалось, поэтому при испытании хроматограммы биологическим методом приходилось исследовать ее всю, в виде отрезков, которые накладывались на бактериальный посев. Отсутствие роста всех испытуемых организмов (20 штаммов) наблюдалось только непосредственно под отрезками хроматограммы, наложенными на посев «газоном», на МПА и на агаре со средой Кнопа с добавкой 1% глюкозы. Совершенно такая же картина получалась и в контроле, где были наложены бумажки, пропитанные одним растворителем.

Метод «комочков» ила, предложенный Волковой [2], и метод «цилиндриков», применяемый при испытании антибиотиков, не дали зон подавления роста ни Staph. aureus, ни всех других организмов, которые мы применяли в нашей работе.

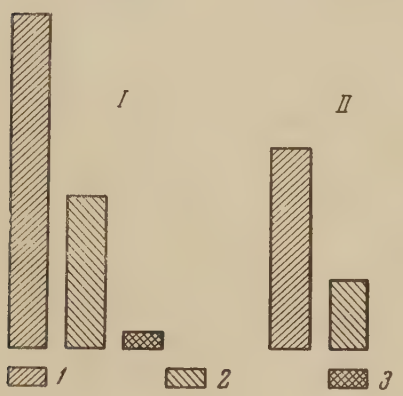
На основании своих опытов мы убедились в отсутствии легкорастворимых активных антибиотиков в илах с глубины 300 и 400 см от поверхности ила в озерах Бисерово и Вийсяаги.

Таким образом, более низкие числа бактерий в глубинных слоях ила не могут быть объяснены наличием антибиотических веществ.

Определение распада органических веществ в иловых отложениях

Второй причиной задержки развития бактерий в глубинных слоях ила, как это указывается в литературе (Кузнецов [5]), может быть недостаток усвояемых органических веществ.

Определение общего количества органического вещества в иле оз. Бисерово показало, что содержание его даже на глубине 400 см составляет около 50% от сухого веса. Потеря при прокаливании составляла 52,5% от сухого веса в поверхностном слое и в образце с глубины 400 см — 46%.



Количество газа, образовавшегося при разложении органического вещества иловых отложений оз. Бисерово под влиянием добавления глюкозы и пептона

I — ил поверхностный; *II* — ил с глубины 400 см. *1* — с добавлением глюкозы (2,5 %); *2* — с добавлением пептона (0,75 %); *3* — без добавления

Однако развитие микроорганизмов в первую очередь зависит от наличия легко усвояемых веществ. Определение последних в глубинных слоях иловых отложений оз. Бисерово было поставлено по тому же методу, который применил Кузнецов [5] при исследовании западносибирских озер.

Из приводимой диаграммы видно, что анаэробный распад органического вещества ила с образованием газов возможен только в поверхностном слое ила. Как в анализах Кузнецова [5], более сильное брожение с выделением газа происходило в трубках, в которых была добавлена глюкоза (2,5%), и слабее в трубках с пептоном (0,75).

В диаграмме представлены средние результаты опыта, поставленного в трех повторностях.

Этот опыт показал, что на глубине 400 см от поверхности ила нет спонтанного брожения, главным образом вследствие недостатка легко усвояемых углеводов, тогда как недостаток азотсодержащих веществ ощущается в меньшей степени. Развитие бактерий в глубоких слоях ила задерживается в основном из-за недостатка усвояемых органических веществ.

* * *

На основании проведенного исследования иловых отложений оз. Бисерово можно придти к выводу, что основные процессы минерализации происходят в поверхностном слое, а остающееся органическое вещество в глубинных слоях состоит главным образом из лигнино-гумусового комплекса, очень устойчивого в анаэробных условиях.

Уменьшение количества микроорганизмов в свою очередь может находиться в зависимости от недостатка легко усвояемого органического вещества. Как показали опыты, развитие микробиологического процесса, а следовательно, и размножение микроорганизмов, может быть активизировано добавкой к илу нужного питательного вещества. Если бы уменьшение живых бактериальных клеток было вызвано присутствием в илах бактерицидных веществ, то подобные добавки не могли бы снять их подавляющего действия.

Конечно, было бы неправильным отрицать возможность скопления в илах веществ, подавляюще действующих на чуждую микрофлору, а также и на некоторые группы организмов, обитающих в водоемах. Тем

не менее нельзя признать антибиотики решающим фактором, останавливающим развитие микробиологических процессов в иловых отложениях.

Применение двойной окраски препаратов (гимза+лихтгрюн) позволило выявить количество живых бактериальных клеток в толще иловых отложений. При просмотре препаратов, окрашенных по Пешкову, оказалось, что процент живых клеток по отношению ко всему количеству резко уменьшается с глубиной. Поэтому все выводы о количестве жизнедеятельных бактерий в илах, основанные на прямом счете при обычной окраске препаратов 5%-ным эритрозином, дают цифры, завышенные в два-три раза.

Выводы

1. В результате исследований мы убедились в отсутствии в глубинных слоях иловых отложений оз. Бисерово и Вийсяаги веществ, действующих антибиотически на Staph. aureus, Sarcina lutea и на организмы, выделенные из поверхностного слоя.

2. Процент мертвых бактерий, обнаруживаемых по методу Пешкова, возрастает по мере углубления в ил. В оз. Бисерово на глубине свыше 200 см количество мертвых клеток достигает 70% от общего числа учитываемых по методу Германова.

3. Задержка развития микробиологических процессов в глубинных слоях ила происходит главным образом из-за отсутствия легко усвояемых органических веществ, в основном из-за недостатка углеводов.

Институт микробиологии
Академии наук СССР
Москва

Получено 1. IV. 1955 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Блок Р., Лестранж Р., Цвейг Г. Хроматография на бумаге. Изд-во иностр. лит-ры, М., 1954.
2. Волкова О. Ю., Балабанова А. В. О бактерицидных свойствах тамбуканской грязи. Микробиология, XIII, № 6, стр. 296, 1944.
3. Калиненко В. О., О методах подсчета бактерий. Почвоведение, № 5, стр. 71, 1953.
4. Карзинкин Г. С. и Кузнецов С. И. Новые методы в лимнологии. Тр. лимнол. ст. в Косине, вып. 13-14, стр. 47, 1931.
5. Кузнецов С. И. Микробиологические исследования озер Кокчетавской, Курганской и Тюменьской областей. Сообщение 1 и 2. Тр. Сапроп. лабор., вып. IV, стр. 5 и 15, 1950.
6. Кузнецов С. И. Роль микроорганизмов в образовании сапропелевых отложений. Микробиология, XX, вып. 3, стр. 245, 1951.
7. Кузнецов С. И. Роль микроорганизмов в круговороте веществ в озерах. Изд-во АН СССР, 1952.
8. Лазарева М. Ф. Усовершенствование прямого метода учета бактерий и применение его к решению вопросов промышленного водоснабжения. Диссертация. Библиотека ВОДГЕО, 1954.
9. Омелянский В. Л. Заметка о сапропеле. Изв. Сапропел. ком., вып. 2, стр. 11, 1925.
10. Пельш А. Д. Минерализация в донных отложениях как гидрохимический и гидробиологический фактор. Природа, № 3, стр. 16, 1935.
11. Пешков М. А. Цитология и кариология бактерий кишечно-тифозной группы. Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунол., № 4-5, стр. 10, 1945.
12. Разумов А. С. Замечания к статье «Метод получения мембранных ультрафильтров для прямого счета, свободных от микробных клеток» Е. А. Рукиной и В. И Бирюзовой. Микробиология, XXI, вып. 4, стр. 478, 1952.
13. Рукина Е. А. и Бирюзова В. И. Метод получения мембранных ультрафильтров для прямого счета, свободных от микробных клеток. Микробиология, XXI, вып. 1, стр. 60, 1952.
14. Шинкаренко А. Л. К вопросу о химической природе бактерицидных веществ тамбуканской грязи. Тр. Бальнеол. ин-та, 26-27, стр. 24, 1947; 28, стр. 73, 1948.
15. Штурм Л. Д. и Канунникова З. А. Распространение микроорганизмов в пресноводных иловых отложениях. Микробиология, XIV, вып. 4, стр. 260, 1945.
16. Экзерцев В. А. Определение мощности микробиологически активного слоя иловых отложений некоторых озер. Микробиология, XVII, вып. 6, стр. 476, 1948.
17. Waksman S. A. a. Woodruff H. B. The occurrence of bacteriostatic and bactericidal substances in the soil. Sc., 53, 233, 1942.

СЕЗОННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ БАКТЕРИАЛЬНОГО СОСТАВА ГРУНТОВ ЛИТОРАЛИ ВОСТОЧНОГО МУРМАНА

Н. С. Никитина

Начало микробиологическим исследованиям грунтов Баренцова моря положено работами Исаченко [5], Буткевича [1], Дианової и Ворошиловой [4] и Лимберг [11]. В этих работах, проведенных в основном с грунтами открытого моря, имеются лишь отдельные сведения по микробиологии литоральных грунтов. Между тем изучение литоральной зоны, своеобразного и специфического участка моря, представляет большой и самостоятельный интерес, не говоря уже о том, что исследования в этом направлении позволяют судить о некоторых закономерностях, общих для всего водоема в целом.

Береговая полоса Баренцова моря имеет хорошо выраженную литоральную зону: амплитуда отливов и приливов на некоторых участках достигает почти 6 м по вертикали, в отдельных случаях дно моря обнажается на многие десятки и даже сотни метров. Эта часть прибрежной полосы богато населена животными и растительными организмами, биомасса которых может достигать нескольких десятков килограммов на 1 м² площади [12]. Наличие сильных движений воды, однако, препятствует накоплению органического детрита и мелких фракций осадка. Приливо-отливные течения приводят к периодической смене воды, обнажению поверхности грунта и являются причиной резких сезонных и суточных колебаний температуры [3]. Все это создает своеобразные условия для развития бактерий.

Настоящая работа представляет собой результат круглогодичных наблюдений за изменением бактериальной флоры в грунтах литорали Баренцова моря. Исследования проводились с ноября 1951 г. по декабрь 1952 г. на мягких пляжах литорали двух губ Восточного Мурмана, одна из которых опреснялась впадающим в кутовую часть ручьем. Пробы грунта брались на постоянных участках, расположенных в нижнем отделе литорали. Бóльшую часть времени эти участки оставались покрытыми водой, полностью обнажаясь лишь несколько раз в месяц, на короткий промежуток времени (до 2 часов). Выбранные участки различались степенью зарастания макрофитами, составом и количеством преобладающего животного населения. Описание участков приведено в табл. 1.

По вертикали стратификация грунтов опытных участков обеих губ была довольно однообразной: поверхностный окисленный слой толщиной 0,5—1,0 см, из мелкого песка разной степени заиленности, подстилался слоем грунта толщиной 7—15 см, из крупного песка и гравия. Ниже был расположен мощный слой серой глины. Такая стратификация определила горизонт взятия проб: обследовался грунт поверхностного слоя и прослойка грунта на глубине от 5 до 7 см. Необходимость микробиологического анализа третьего слоя отпала ввиду почти полной его стерильности.

Пробы грунта брались один раз в месяц с соблюдением асептических условий. Каждая проба представляла собой по весу 100 г грунта. Микробиологический анализ проводился через два часа после взятия проб. При этом определялось общее количество бактерий и количество бактерий отдельных физиологических групп: гнилостных, денитрифицирующих, нитрифицирующих и сульфатвосстанавливающих.

Общее число бактерий определялось прямым счетом по видоизмененному методу Виноградского. Взвесь бактерий готовилась пятиминутным взбалтыванием 1 г грунта в 10 мл 0,0004 раствора NaOH. 0,01 мл исходной взвеси распределялась на предметном стекле на площади 4 см². Препарат фиксировался абсолютным спиртом и окрашивался 3%-ным карболовым эритрозином в течение 30 минут. Из каждой пробы грунта изготовлялось по два препарата; подсчет производился в 100 полях зрения каждого препарата.

Количество бактерий отдельных физиологических групп определялось методом предельных разведений. Посевы начинались с 1 г сырого грунта. Дальнейшие разведе-

Таблица 1

Описание участков литорали в местах постоянных наблюдений

№ участка	Местоположение	Преобладающие группы организмов	Характеристика грунта
1	Губа № 1	Поселение мидий, густые заросли фукуса	Верхний слой грунта толщиной 0,5 — 1 см — крупный песок серого цвета; подстилающий слой толщиной 10 — 12 см — гравий с примесью песка, следы сероводорода
2	»	Поселение мелких полихет сем. Sabellidae; мидий и макрофитов в радиусе 10 м нет	Верхний слой 0,5 — 1 см — мелкий желтый, сильно заиленный песок с трубками полихет; подстилающий слой 8 — 10 см — крупный песок с примесью гравия
3	»	Макрофитов и заметных количеств моллюсков и червей в радиусе 10 м нет	Верхний слой 0,5 — 1 см — песок серого цвета; подстилающий слой 5 — 8 см — крупный песок с гравием, прослойки глины
4	Губа № 2	Поселение мидий, густые заросли фукуса	Верхний слой 0,5 — 1 см — песок серого цвета; подстилающий слой 9 — 10 см — гравий с примесью песка, остатками литотамния и раковин моллюсков
5	»	Поле с кучками Arenicola marina; мидий и макрофитов в радиусе 10 м нет	Верхний слой 1 — 2 см — песок серого цвета; подстилающий слой 8 — 10 см — крупный песок с примесью гравия, следы сероводорода
6	»	Макрофитов, заметных количеств моллюсков и червей в радиусе 10 м нет	Верхний слой 0,5 — 1 см — песок серого цвета; подстилающий слой 9 — 10 см — гравий с песком желтого цвета

ния готовились из взвеси бактерий, полученной пятиминутным взбалтыванием 1 г грунта в 10 мл воды. Употреблялись следующие питательные среды: 1) для гнилостных бактерий — мясопептонный бульон, приготовленный на морской воде; 2) для денитрифицирующих — среда Гильтая (морская вода — 1 л, KNO_3 — 2,0 г, K_2HPO_4 — 2,0 г, $MgSO_4$ — 2,0 г, $CaCl_2$ — 0,2 г, щавелевокислый натрий — 5,0 г, $FeCl_3$ — следы); 3) для нитрифицирующих — среда Виноградского в изменении Карей (K_2HPO_4 — 0,15 г и $(NH_4)_2SO_4$ — 0,15 г на 1 л морской воды, с добавкой в каждую колбу 5 г прокаленного песка и 0,5 г мела); 4) для сульфатвосстанавливающих — среда Таусона (морская вода — 1 л, молочнокислый кальций — 3,0 г, $(NH_4)_2SO_4$ — 4,0 г, K_2HPO_4 — 0,5 г, $MgSO_4$ — 1,0 г, соль Мора — 0,5 г, аскорбиновая кислота — 0,1 г). Посевы выдерживались при комнатной температуре (15—20°) от 10 до 30 дней, в зависимости от группы микроорганизмов.

Экспериментальная часть

Однотипный характер сезонных изменений количества бактерий на различных участках давал право просуммировать данные по отдельным участкам и вывести средние. Эти средние числа по каждой группе бактерий приведены в табл. 2.

Необходимо отметить, что число бактерий рассмотренных физиологических групп составляет около 1,5% от общего количества бактерий.

Общее количество бактерий

Количество бактерий в грунтах литорали Баренцова моря определяется сотнями миллионов на 1 г сырого грунта (табл. 2, рис. 1). Максимум развития бактерий падает на весенне-летние месяцы — июнь, июль, август, и лишь небольшой подъем отмечен в ноябре. В июле 1 г грунта поверхностного слоя содержал в среднем 546,98 млн. бактерий. На отдельных участках количество бактерий достигало 817 млн. (участок № 2).

В зимние месяцы количество бактерий снижалось до 159,5 млн., причем количество бактерий в поверхностном и глубинном слоях уравнивалось. В глубинном слое максимальное количество приходилось на август и со-

Таблица 2

Сезонные изменения количества бактерий в грунтах литорали
(в тысячах на 1 г сырого грунта)

Группа бактерий	Глубина грунта в см	1951 XI	1951 XII	1952 I	1952 II	1952 III
Общее количество	0—0,5	—	185 700	159 500	222 220	—
	5—7	—	157 260	162 360	222 500	—
Гнилостные	0—0,5	6022,0	186,8	21,8	38,5	—
	5—7	10,0	20,3	5,3	3,7	—
Денитрифицирующие	0—0,5	6,20	2,20	0,03	0,02	—
	5—7	2,20	0,20	0,02	0,07	—
Нитрифицирующие	0—0,5	0,080	—	0	0,002	—
	5—7	0,066	—	0	0	—
Сульфатвосстанавливающие	0—0,5	0,02	0,05	0,07	0,05	—
	5—7	1,69	0,38	0,07	0,08	—

Группа бактерий	Глубина грунта в см	1952 IV	1952 V	1952 VI	1952 VII	1952 VIII
Общее количество	0—0,5	169 570	226 500	456 500	546 980	434 820
	5—7	107 210	109 200	177 330	276 840	284 650
Гнилостные	0—0,5	7,0	30,0	5,35	370,0	280,0
	5—7	1,9	3,0	0,2	38,5	100,0
Денитрифицирующие	0—0,5	0,05	5,50	172,00	218,50	85,00
	5—7	0,01	8,60	185,00	190,00	100,00
Нитрифицирующие	0—0,5	0	2,700	1000,0	500,5	1,00
	5—7	0	0,025	385,0	67,0	0,85
Сульфатвосстанавливающие	0—0,5	0,01	27,53	0,07	0,02	0,05
	5—7	0,18	50,50	2,00	0,02	0,02

Группа бактерий	Глубина грунта в см	1952 IX	1952 X	1952 XI	1952 XII
Общее количество	0—0,5	277 950	208 740	301 370	145 110
	5—7	200 930	136 260	223 130	139 530
Гнилостные	0—0,5	70,0	55,0	2 643,0	2 035,0
	5—7	52,0	22,0	38,5	7,0
Денитрифицирующие	0—0,5	7,00	0,40	3,53	0,37
	5—7	7,00	0,38	1,90	0,20
Нитрифицирующие	0—0,5	66,7	0,400	0,020	0,385
	5—7	20,1	0,053	0,002	0,053
Сульфатвосстанавливающие	0—0,5	0,02	0,02	7,00	3,40
	5—7	0,02	0,22	21,85	5,18

ставляло 284,6 млн.; минимальное количество, 107—109 млн., отмечено в апреле и мае.

Сопоставление кривой изменения общего числа бактерий с сезонными колебаниями температуры воды и воздуха показывает зависимость числа бактерий от температуры. Так, развитие бактерий в поверхностном слое начинается в мае, когда среднемесячная температура воздуха дости-

гает 1°,1, а воды 2°,2 (в работе приводятся среднемесячные температуры воды и воздуха). В июле, когда температура воздуха достигает годового максимума (температура воздуха 11°,4, воды 7°,6), количество бактерий выражается небольшими величинами. В следующие месяцы, одновременно с падением температуры, количество бактерий снижается. Однако это снижение начинается при температурах, значительно превышающих весенние (в сентябре температура воды 6°,4, температура 7°,7), и при достаточных количествах органического вещества. Видимо, это явление связано не только с падением температуры, но и с биологическими особенностями развития бактерий. Несомненно, что развитию бактерий в летний период помимо температуры способствует также обогащение грунтов литорали органическим веществом, но в данном случае этот фактор не является решающим. В этом убеждают условия возникновения второго максимума в развитии бактерий, имеющего место в момент наибольшего накопления органического вещества, но при температурах значительно более низких, чем летние (температура воздуха в ноябре —3°,8, воды —3°,8). Меньшую величину максимума развития бактерий в это время можно объяснить влиянием низких температур.

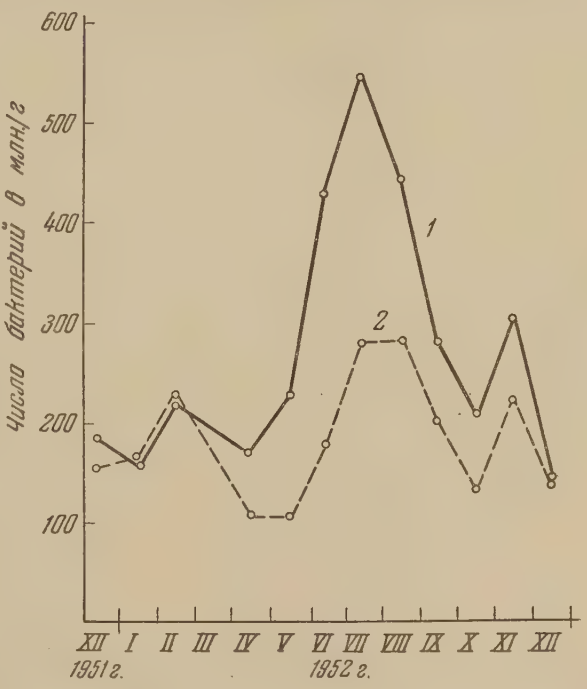


Рис. 1. Сезонные изменения общего числа бактерий в грунтах литорали

1 — глубина грунта 0—0,5 см, *2* — глубина грунта 5—7 см

В глубинном слое, где органического вещества значительно меньше и оно, видимо, отличается качественно, развитие бактерий происходит менее интенсивно: оно позже начинается, и максимум бактерий значительно ниже.

Минимальное количество бактерий в грунтах литорали не было ниже 60,28 млн. на 1 г грунта. Такое значительное количество бактерий объясняется относительно высокими температурами воды, характерными для береговой зоны Восточного Мурмана, постоянным наличием значительных количеств органического вещества и несомненным присутствием среди бактерий психрофильных форм.

Микроскопические исследования показали, что в грунтах преобладают палочкообразные формы, особенно много мелких палочек длиной 0,5—0,7 μ. Кокковые формы встречаются большей частью в поверхностном слое, часто группами на частичках органического вещества.

Общее количество бактерий в грунтах литорали Баренцова моря, таким образом, характеризуется цифрами, близкими для прибрежной полосы и открытой части Баренцова моря [1, 11], для грунтов Азовского и Черного морей [6] и глубоководных грунтов Охотского моря [9]. Бóльшие величины отмечены Криссом, Рукиной и Бирюзовой [8] для грунтов Черного моря, на некоторых станциях Карского моря (Исаченко [7]) и в поверхностном слое ила пресноводных водоемов (Кузнецов [10]).

Гнилостные бактерии

Количество бактерий, растущих на мясопептонных средах, испытывает резкие колебания в течение года (табл. 2, рис. 2). Максимум бактерий этой группы более чем в тысячу раз превосходит минимальное количество, в то время как для общего количества бактерий отмечено увеличение только в четыре раза.

Характерной особенностью гнилостных бактерий является существенная зависимость их развития от количества и качества, имеющихся

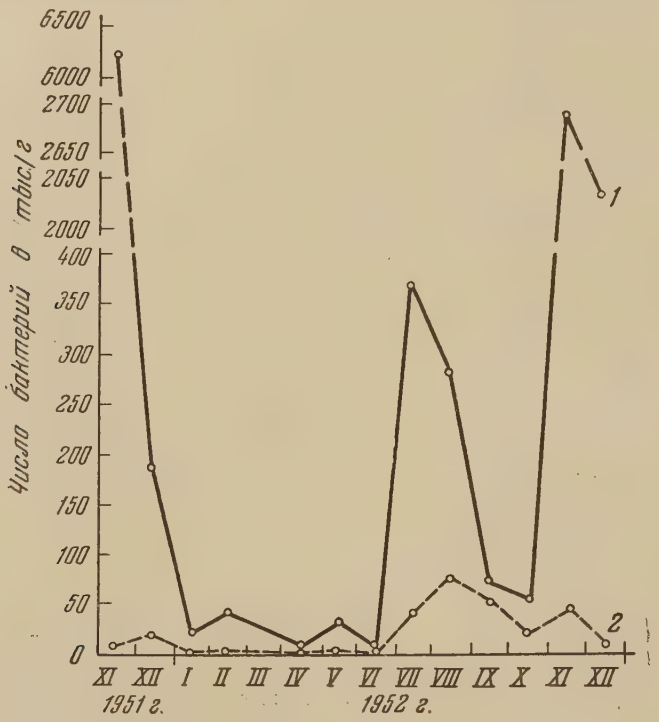


Рис. 2. Сезонные изменения количества гнилостных бактерий в грунтах литорали

1 — глубина грунта 0—0,5 см; *2* — глубина грунта 5—7 см

в грунтах органических веществ. Эта зависимость откладывает отпечаток на ход сезонных изменений количества бактерий рассматриваемой группы. Намечаются два резко выраженных максимума: летний, с наибольшим количеством бактерий в июле и августе, когда 1 г грунта поверхностного слоя содержал до 280—370 тыс. бактерий, и осенний, в ноябре-декабре, с количеством бактерий в 2—6 млн. Летний максимум значительно ниже осеннего; он создается под влиянием нарастающих количеств органического вещества и повышения температуры. Что касается второго, наибольшего максимума, то он образуется при больших количествах органического вещества на фоне низких температур — воды около 2° и воздуха от —7,9 до —19°,1. Следовательно, на развитие бактерий этой группы непосредственное влияние оказывает органическое вещество; влияние температуры сказывается много слабее. Гнилостные бактерии, в свою очередь, служат как бы чувствительным показателем количества легкоразрушающегося органического вещества в окружающей среде. В глубинный слой проникновение легкоразрушающегося органического вещества, оседающего на поверхность грунта, невелико, гнилостные бактерии там встречаются в меньшем количестве и осенний максимум их развития выражен очень слабо. Это может быть косвенным показателем количества

и качества органического вещества, содержащегося в глубинном слое.

Данные, приведенные в табл. 3, также показывают зависимость количества гнилостных бактерий от органического вещества. Участки № 1, 2 и 4, отличавшиеся значительной биомассой макроорганизмов, представленных мелкими полихетами, моллюсками и водорослями (табл. 1), имеют бо́льшие количества гнилостных бактерий, чем остальные участки.

Таблица 3

Количество гнилостных бактерий на различных участках литорали

(средние данные за год в тысячах на 1 г)

Глубина грунта в см	Участки					
	№ 1	№ 2	№ 3	№ 4	№ 5	№ 6
0—0,5	1657,15	1803,07	189,31	943,92	180,86	126,24
5—7	20,25	20,94	41,70	25,85	18,02	13,24

Определяющая роль органического вещества в развитии гнилостных бактерий подтверждается данными Буткевича [1], полученными для водной толщи Баренцова моря, сравнением грунтов, отличающихся по количеству органического вещества [13], и сезонными наблюдениями, проведенными на пресных водоемах [10]. Крисс [9] также отводит гетеротрофным микроорганизмам, растущим на белковых средах, роль индикаторов на доступное микробному разложению органическое вещество.

Малая чувствительность к низким температурам у гнилостных бактерий грунтов Баренцова моря показана в лабораторных условиях Буткевичем [1, 2]. Им выделены формы, развивающиеся при —7,9°, при одновременно высоком солевом составе среды; при обычных соленостях развитие этих бактерий приостанавливалось замерзанием среды.

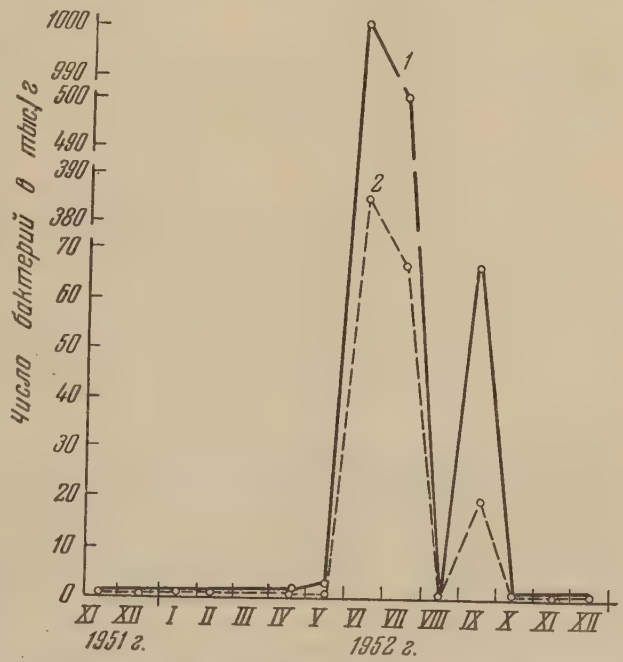


Рис. 3. Сезонные изменения количества нитрифицирующих бактерий в грунтах литорали

1 — глубина грунта 0—0,5 см; *2* — глубина грунта 5—7 см

Нитрифицирующие бактерии

В отличие от гнилостных бактерий, в развитии этой группы большая роль принадлежит температуре. Нитрифицирующие бактерии имеют резко выраженный летний максимум (табл. 2, рис. 3). Развитие началось в мае и достигло в июне и июле значительных величин — 1 млн. бактерий на 1 г. В октябре температура воды оставалась достаточно высокой (5°,6), однако низкая температура воздуха (—0°,2), влияющая на грунт литорали в момент отлива, привела к резкому снижению количества бактерий. Чувствительность нитрифицирующих бактерий

к низким температурам отмечалась Исаченко [7]; по его наблюдениям, развитие морских нитрифицирующих бактерий в лабораторных условиях прекращается при 6°. Резкое снижение количества бактерий в августе нельзя поставить в связь с температурой; видимо, оно было вызвано другими причинами.

Интересно отметить, что нитрифицирующие бактерии встречаются не только в поверхностном слое грунта, но и на глубине 5—7 см и даже в грунтах с запахом сероводорода.

Денитрифицирующие бактерии

Эта группа представлена организмами, восстанавливающими нитраты до нитритов и образующими аммиак; истинные денитрификаторы в тече-

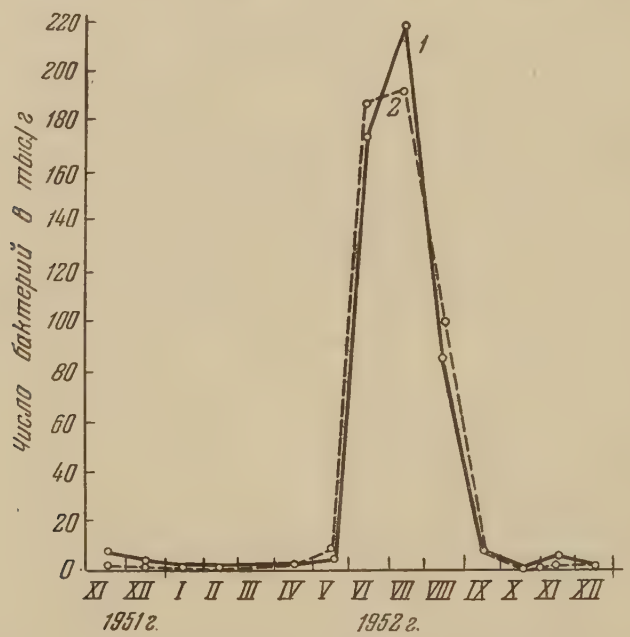


Рис. 4. Сезонные изменения количества динитрифицирующих бактерий в грунтах литорали

1 — глубина грунта 0—0,5 см; *2* — глубина грунта 5—7 см

ние всего срока наблюдения не обнаружены. В поверхностном и глубинном слое денитрифицирующие бактерии представлены близкими количествами и достигают 218,5 тыс. на 1 г грунта (табл. 2, рис. 4). В большинстве случаев они не превышают количества гнилостных бактерий и, судя по их характеристике, составляют часть бактерий этой группы. Сопоставление максимумов в развитии этих двух групп бактерий позволяет сделать предположение о смене видового состава бактерий по сезонам. Летний максимум развития гнилостных бактерий представлен в большей своей части формами, восстанавливающими нитраты до нитритов. С началом падения температуры воды и воздуха количество денитрифицирующих бактерий резко снижается и остается незначительным в остальное время года. Таким образом, осенний максимум развития гнилостных бактерий не сопровождается развитием видов, восстанавливающих нитраты до нитритов, т. е. представлен видами, отличными от летних.

Бактерии, восстанавливающие нитраты до нитритов, так же как и нитрифицирующие бактерии, обладают определенной чувствительностью к действию низких температур и являются показателями теплового ре-

жима среды. Присутствие бактерий с сильно выраженной склонностью к денитрификации до свободного азота отмечено Буткевичем [1] для теплового Нордкапского течения Баренцова моря.

Сульфатвосстанавливающие бактерии

Их развитие имеет иной характер, чем у описанных выше групп бактерий (табл. 2, рис. 5). У сульфатовосстанавливающих бактерий отсутствует летний максимум; развитие интенсифицируется в периоды с умеренной температурой: в мае количество бактерий достигает 50,5 тыс. и

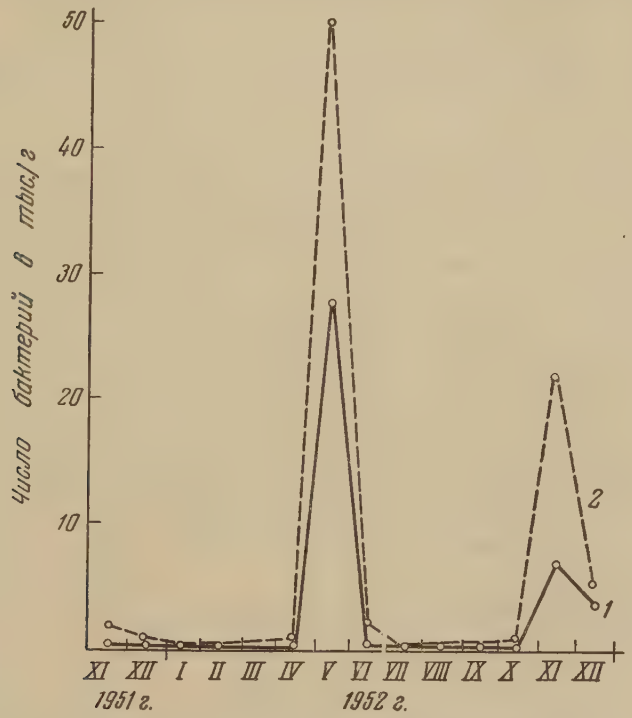


Рис. 5. Сезонные изменения количества сульфатвосстанавливающих бактерий в грунтах литорали

1 — глубина грунта 0—0,5 см; *2* — глубина грунта 5—7 см

в ноябре — декабре 21,8 тыс. на 1 г. В остальное время количество бактерий незначительно, чаще всего не превышает десятка клеток на 1 г грунта. Сезонные изменения имеются в обоих слоях грунта, с небольшим преобладанием в числе бактерий на глубине 5—7 см.

Сульфатвосстанавливающие бактерии принадлежат, без сомнения, к организмам мало чувствительным к понижению температуры. В лабораторных условиях их развитие и восстановление сульфатов наблюдалось Исаченко [7] при температурах 5—8°, в природе же это происходит, как показывают наши данные, при значительно меньших температурах. Можно предполагать, что слабое развитие этих бактерий в летний период, с июня по октябрь, связано с меньшим развитием на поверхности грунта водорослей микробентоса, создающих во время фитосинтеза повышенную аэрацию грунта. Кроме того, этому же может способствовать наличие среди бактерий антагонистов к десульфурирующим бактериям.

Активность выделенных сульфатвосстанавливающих бактерий невелика, заметное развитие наблюдается только через 10—20 дней с момента посева.

Выводы

В 1 г грунта литоральной зоны Баренцова моря содержатся сотни миллионов бактерий различных физиологических групп, количество которых в течение года значительно изменяется.

Резко выраженная сезонность в развитии бактерий в основном обусловлена колебаниями температуры, изменением количества и качества органического вещества и биологическими особенностями развития каждой группы бактерий. Начало интенсивного развития бактерий наблюдается в мае при температуре воды около 2° и температуре воздуха около 1°, при обильном развитии растительных организмов, обогащающих литораль разлагающимся органическим веществом.

Сульфатвосстанавливающие бактерии в этом же месяце показывают максимальное развитие. Остальные группы бактерий достигают максимума развития в июле, одновременно с подъемом температуры. С понижением температуры количество бактерий снижается.

Развитие денитрифицирующих и нитрифицирующих бактерий прекращается в октябре с появлением отрицательных температур воздуха. Менее чувствительны к низким температурам сульфатвосстанавливающие и гнилостные бактерии, дающие второй максимум в ноябре и декабре при температуре воды от 2 до 3°,8 и при снижении температуры воздуха до —7—19°. Появлению второго максимума в это время способствуют массовое отмирание организмов и накопление неразложившихся остатков.

В летнее время гнилостные бактерии представлены в основном формами, восстанавливающими нитраты в нитриты, в то время как во втором максимуме преобладали виды, лишенные этой способности.

Наиболее активно микробиологические процессы в грунтах литорали протекают в поверхностном слое грунта. Однако и на глубине 5—7 см имеются сезонные изменения в количестве бактерий всех групп, указывающие на отсутствие консервации бактерий на этой глубине и на их участие в процессах превращения веществ.

Мурманская биологическая
станция Кольского филиала
АН СССР

Получено 4. VIII. 1954 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Буткевич В. С. Методика бактериологического исследования и некоторые данные по распределению бактерий в воде и грунтах Барецова моря. Тр. Гос. океаногр. ин-та, II, вып. 2, 5, 1932.
2. Буткевич Н. В. и Буткевич В. С. Размножение морских бактерий в зависимости от состава среды и температуры. Микробиология, V, 322, 1936.
3. Гурьянова Е., Закс И., Ушаков П. Литораль Кольского залива. Ч. III. Тр. Ленингр. об-ва естеств., LX, 1930.
4. Дианова Е. и Ворошилова А. Бактериальный профиль морских и озерных осадков как показатель их эрозии и возраста. ДАН СССР, XXX, № 3, 274, 1941.
5. Исаченко Б. Л. Исследования над бактериями Северного Ледовитого океана. Избр. труды, I, М.—Л., 1951.
6. Исаченко Б. Л. Микроскопический анализ грунтов Азовского и Черного морей. Избр. труды, I, М.— Л., 1951.
7. Исаченко Б. Л. Микробиологическая характеристика грунтов и воды Карского моря. Избр. труды, I, М.— Л., 1951.
8. Крисс А. Е., Рукина Е. А. и Бирюзова В. И. Судьба мертвого органического вещества в Черном море. Микробиология, XX, 90, 1951.
9. Крисс А. Е. Микробиальная жизнь в океанических глубинах. Усп. совр. биологии, XXXIV, вып. 2 (5), 194, 1952.
10. Кузнецов С. И. Роль микроорганизмов в круговороте веществ в озерах. М., 1952.
11. Лимберг Е. Л. Количество бактерий и бактериальные процессы в прибрежной полосе Баренцова моря. Тр. Зоол. ин-та, VII, вып. 2, 221, 1941.
12. Матвеева Т. А. Сезонные изменения литорального населения на каменистой фации в губе Дальне-Зеленецкой. Тр. Мурм. биол. ст., I, 123, 1948.
13. ZoBell Cl. Marine microbiology. Waltham, Mass., U. S. A., 1946.

ПОТРЕБЛЕНИЕ АЗОТА ДРОЖЖАМИ ПРИ МНОГОКРАТНОМ ИХ ИСПОЛЬЗОВАНИИ И НЕПРЕРЫВНОМ СПОСОБЕ БРОЖЕНИЯ

С. А. Коновалов

Непрерывный способ сбраживания сахаристых растворов (патоки, свекловичного сока, гидролизатов древесины) нашел применение в заводских условиях.

Сбраживание патоки осуществляется в батарее, состоящей из пяти-шести последовательно соединенных между собой аппаратов [3, 5, 6]. Сбраживание свекловичного сока на отдельных заводах Франции также осуществляется в батарее, состоящей из 10 и даже, в отдельных случаях при использовании старого оборудования, из 19 аппаратов [7]. Дрожжи задаются в первый или в первые два аппарата непрерывной батареи одновременно с притоком патоки или свекловичного сока. Сбраживаемая жидкость перетекает из одного аппарата в другой. При этом происходит расчленение процесса брожения на отдельные, в известной степени самостоятельные, этапы. В первом аппарате, в который задаются посевные дрожжи, происходит интенсивное размножение дрожжевых клеток, так как сюда все время поступает сусло, содержащее много сахара и других питательных веществ. Во втором аппарате, при непрерывном притоке бражки, осуществляется главное брожение, а в последующих — постепенное замедление брожения.

В последних аппаратах из-за малого содержания сахара и других питательных веществ, а также из-за образования спирта и продуктов обмена создаются неблагоприятные условия для жизнедеятельности дрожжевой клетки.

При непрерывном способе сбраживания сахаристых растворов, не содержащих взвешенных частиц, скорость потока сбраживаемой жидкости из одного аппарата в другой, как правило, опережает скорость уноса дрожжей, вследствие чего одно и то же количество дрожжевых клеток сбраживает больше сахара в сравнении с периодическим способом брожения, в котором дрожжи сбраживают лишь одну порцию сусла. Следовательно, при непрерывном способе сбраживания сахаристых сред дрожжи используются многократно. В силу указанных причин дрожжи по стадиям брожения распределяются неравномерно; эта неравномерность объясняется еще и тем обстоятельством, что значительная часть дрожжевых клеток, особенно в конце брожения, оседает на дно бродильного аппарата. В практике работы отдельных заводов стремятся возвращать один раз использованные дрожжи (после их предварительного отделения центрифугированием от бражки снова в бродильный аппарат для повторного брожения [2]. На некоторых заводах Франции иногда даже дополнительно вносят в бражку прессованные дрожжи с целью устранения их размножения и снижения расхода сахара на их питание [7]. Принято считать, что расход питательных веществ на дрожжи при многократном их использовании снижается.

Потребление азота дрожжами осуществляется в основном в период их размножения и роста. При непрерывном способе брожения, как и при периодическом методе, размножение дрожжевых клеток происходит, как правило, в начальной стадии брожения. Однако данные, подтверждающие количество потребленного азота на различных стадиях непрерывного брожения, приводятся лишь в единичных статья [5], а при многократном использовании дрожжей — они вообще отсутствуют. Удлинение срока использования дрожжевой клетки и изменение при этом обмена веществ имеет большое значение для производства.

Задача настоящей работы заключалась в том, чтобы проследить за размножением дрожжей и потреблением ими азота при многократном их использовании и непрерывном способе брожения.

Методика

Для сбраживания пивного сусла или фильтрованного ржаного затора применялись дрожжи Saccharomyces cerevisiae XII расы. Чистую культуру дрожжей выращивали в стерильных условиях на сусле. Для брожения применяли по 5 мл суспензии дрожжей на 100 мл сусла, содержащего

Таблица 1

Потребление азота дрожжами при многократном их использовании

Число возвратов дрожжей	Опыт № 1			Опыт 2						Опыт № 3			Средние данные по усвоению азота	
	Усвоено азота (мг)			Усвоено азота (мг)			Усвоено азота (мг)			Усвоено азота (мг)				
	в 100 мл		10 млрд. клеток	в 100 мл		10 млрд. клеток	в 100 мл		10 млрд. клеток	в 100 мл		10 млрд. клеток	за один возврат (мг)	относительно к одному возврату в %
	за один возврат	всего		за один возврат	всего		за один возврат	всего		за один возврат	всего			
1	47,6	47,6	56,0	33,6	33,6	48,0	33,6	33,6	61,8	34,6	34,6	45,5	37,3	100
2	42,0	89,9	57,8	30,8	64,4	55,7	30,8	64,4	60,7	33,6	68,2	43,1	34,0	91,1
3	30,8	120,4	61,7	22,4	86,8	49,9	28,0	92,4	61,6	33,8	102,0	53,4	28,7	76,9
4	0,0	120,4	40,5	28,0	114,8	44,8	28,0	120,4	53,3	27,8	129,0	56,0	20,9	56,0
5	5,6	126,0	39,7	22,4	137,2	43,4	22,4	142,8	53,1	—	—	—	16,8	45,4
6	19,6	145,6	46,6	19,6	156,8	46,3	19,6	162,4	54,3	—	—	—	19,6	52,5
7	25,2	170,8	43,0	14,0	170,8	52,2	8,4	170,8	55,5	—	—	—	15,9	42,6
8	25,2	196,0	44,5											
Среднее за один возврат	24,4	—	48,8	24,4	—	50,5	24,7	—	57,2	32,4	—	49,5	24,7	60,7

17% сухих веществ по сахарометру. О ходе и интенсивности брожения судили по количеству выделившейся углекислоты.

При многократном использовании дрожжей, после окончания каждого цикла брожения, они отделялись от бражки центрифугированием, промывались три раза стерильной водой, затем дрожжи переводились в следующую колбу, содержавшую 100 мл сусла, на брожение. Возврат дрожжей в сусло повторялся до 7—9 раз.

Потребление азота дрожжами как при многократном их использовании, так и при непрерывном способе брожения учитывали по разнице между содержанием азота в сусле и бражке. При этом в отдельных опытах определение азота проводилось одновременно и непосредственно в дрожжах. Брожение проводили в специальном аппарате, состоящем из шести стеклянных сосудов, соединенных между собой стеклянными переходами и каучуковыми трубками.

Поступавшее в первый сосуд сусло свободно перетекало по трубкам из сосуда в сосуд и вытекало из последнего сосуда в приемник сброженной жидкости. Емкость каждого сосуда равнялась 180—200 или, в другом варианте, 400—450 мл. Весь прибор помещался в термостат на 30°. Приток сусла регулировался при помощи винтового зажима по счету капель в промежуточной пипетке, расположенной между склянкой с питающим сосудом и первым сосудом прибора. Дрожжи предварительно размножались в течение 20—24 часов в первом сосуде. Затем устанавливался непрерывный приток сусла, скорость которого измерялась оборотами одного сосуда в сутки. Дрожжи из первого сосуда током бражки переносились в последующие сосуды, и постепенно бражка заполняла весь прибор.

Счет дрожжевых клеток проводили в камере Горяева. Общий азот в субстрате определяли по Кьельдалю, аминный азот — медным способом [1].

Потребление азота дрожжами при многократном их использовании

Потребление азота дрожжами при их многократном использовании представляет определенный интерес.

Полученные при этом экспериментальные данные, сведенные в табл. 1, говорят о том, что при увеличении числа возвратов дрожжей расход азота на их питание относительно снижается. Так, например, при сбраживании сусла дрожжами однократно (т. е. без их возврата) было усвоено 33,6 мг азота, а дрожжами, возвращаемыми для брожения в течение шести или семи раз, было потреблено лишь 19,6 и 8,4 мг азота в 100 мл субстрата, т. е. в 2—4 раза меньше (опыт 2). В другом опыте количество усвоенного дрожжами азота значительно снижалось лишь после трехкратного использования, а потом, после шестикратного возврата, потребление азота снова возрастало и достигало 25,2 мг, против 47,6 мг контроля, т. е. дрожжей, использованных однократно (опыт 1). В третьем опыте снижение потребления азота дрожжами по мере увеличения числа их возвратов проявлялось в еще меньшей степени, чем в других вышеописанных опытах.

Если на основании данных всех опытов вывести средние данные по потреблению азота дрожжами за каждый их возврат, то можно заметить следующее. За каждый возврат дрожжей потребление азота в 100 мл субстрата снижается каждый раз на 3,3—7,5 мг, что составит в среднем около 10% к азоту, усвоенному при первом использовании дрожжей. При шестикратном возврате дрожжей количество усвоенного азота снижается на 57% по сравнению с потреблением, соответствующим начальному, однократному их использованию.

Общее же количество усвоенного азота дрожжами, использованными многократно, во всех указанных опытах существенно между собой не отличалось. Например, после четырехкратного возврата дрожжей потребление азота в сумме колебалось в пределах от 114,8 до 129 мг, а после семикратного возврата оно во всех опытах составляло 170,8 мг.

Если количество усвоенного азота рассчитать на 10 млрд. дрожжевых клеток, то оно по мере увеличения кратности использования дрожжей мало изменяется и в отдельных опытах составляет в среднем 48,0 и 56,0 мг (табл. 1, рис. 1).

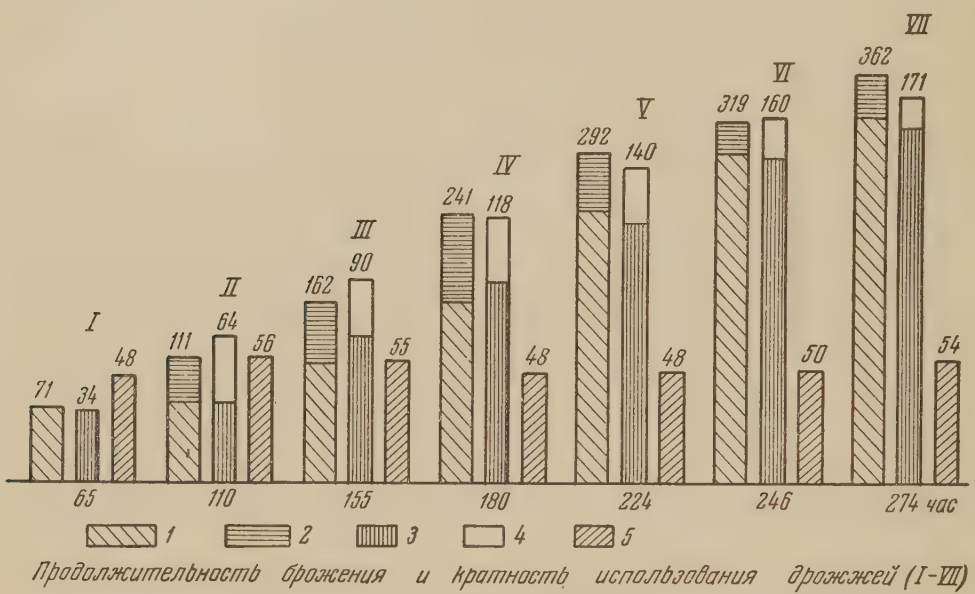


Рис. 1. Потребление азота дрожжами при многократном их использовании

1 — количество дрожжевых клеток в 1 мл субстрата в начале брожения (в миллионах); *2* — прирост дрожжевых клеток за каждый цикл брожения (в миллионах в 1 мл); *3* — усвоено дрожжами азота за предыдущий цикл брожения в 100 мл бражки (в мг); *4* — потребление азота дрожжами за каждый цикл брожения (в мг в 100 мл); *5* — усвоено азота 10 млрд. клеток за каждый цикл многократного использования дрожжей (в мг)

Следовательно, потребление азота, рассчитанное на определенное количество дрожжевых клеток, независимо от кратности их возврата, остается величиной относительно постоянной и связанной с размножением дрожжей. Зависимость этих двух процессов наглядно показана на рис. 1. Если на рисунке в соответствующем масштабе изобразить содержание дрожжевых клеток и потребление азота, то его количество за каждый возврат дрожжей будет соответствовать приросту дрожжевых клеток.

Необходимо отметить, что размножение дрожжей имело место во всех случаях даже после шести- и восьмикратного их возврата. Например, после трехкратного возврата дрожжей в 1 мл бражки содержалось 126, 162 и 195 млн. клеток, в конце же опыта, после семи- и девятикратного возврата, их количество составляло уже 317 и 442 млн. (табл. 2). Следовательно, за каждый цикл брожения прирост клеток колебался в пределах от 20 до 102 млн. в 1 мл. Даже при содержании в 1 мл бражки 364, 4 и 397,5 млн. клеток имело место их размножение, причем прирост клеток составил 42,5 и 78, 1 млн. в 1 мл.

Наряду с приростом дрожжей по мере увеличения числа их возвратов — представляет интерес и содержание мертвых клеток, т. е. окрашивающихся метиленовой синью. Оказалось, что с увеличением числа воз-

Таблица 2

Размножение дрожжей при многократном их использовании *

Число возвратов дрожжей	Продолжительность брожения в часах	Дрожжевых клеток в 1 мл (млн.)	Прирост клеток за один цикл	Относительный прирост	Число возвратов дрожжей	Продолжительность брожения в часах	Дрожжевых клеток в 1 мл (млн.)	Прирост клеток за один цикл	Относительный прирост	Число возвратов дрожжей	Продолжительность брожения в часах	Дрожжевых клеток в 1 мл (млн.)	Прирост клеток за один цикл	Относительный прирост	Почкующихся клеток в конце цикла	Мертвых клеток в %	Дрожжевых клеток, не окрашивающихся метиленовой синью
1	64	71,3	62,2	7,9	1	41	151,6	76,6	2,0	1	47	85,0	70,7	5,9	10,2	7,0	79,1
2	103	110,9	39,6	1,5	2	65	78,4	34,7	2,2	2	70	155,0	70,0	1,8	14,0	12,0	136,4
3	154	161,9	51,0	1,4	3	111	125,7	47,4	1,6	3	93	195,0	40,0	1,3	12,5	24,3	147,6
4	178	241,2	79,4	1,5	4	170	170,0	44,2	1,3	4	140	297,0	102,0	1,5	10,9	53,8	137,2
5	224	292,5	51,2	1,2	5	215	206,9	36,9	1,2	5	163	317,5	20,5	1,1	9,4	46,4	170,2
6	247	318,7	26,2	1,1	6	262	282,5	75,6	1,4	6	188	312,5	0,0	1,0	9,6	51,0	153,1
7	274	317,5	0,0	1,0	7	285	318,7	36,2	1,1	7	208	397,5	85,0	1,3	8,1	50,9	195,2
—	—	—	—	—	8	327	364,4	45,7	1,1	8	232	440,0	42,5	1,1	9,0	51,0	215,6
—	—	—	—	—	9	350	442,5	78,1	1,2	—	—	—	—	—	—	—	—

* Для брожения применялось сусло, содержавшее 17% сухих веществ по сахарометру. В начале брожения содержалось дрожжевых клеток в 1 мл субстрата опыта 1 — 9,11 млн., опыта 2 — 75,0 млн.

вратов дрожжей процент мертвых клеток также увеличивается. Если в начале опыта мертвых клеток было около 7%, то в конце опыта их было 45—50% от общего количества дрожжевых клеток. Поэтому при различном числе возвратов дрожжей количество клеток, не окрашивающихся метиленовой синью, не превышает 170—215 млн. в 1 мл, а количество почкующихся клеток остается практически постоянным и колеблется в пределах 8 и 14% (табл. 2).

Таким образом, при многократном использовании дрожжей возможно лишь незначительно снизить относительный прирост дрожжевых клеток и расход питательных веществ сбраживаемого субстрата.

Потребление азота дрожжами при непрерывном способе брожения

При непрерывном способе брожения размножение дрожжевых клеток наиболее интенсивно осуществляется в начальной его стадии, т. е. в первом сосуде батареи, куда постоянно поступает сусло, содержащее питательные вещества. Установлено, что постоянный приток питательной среды оказывает благоприятное влияние на размножение дрожжей, не-

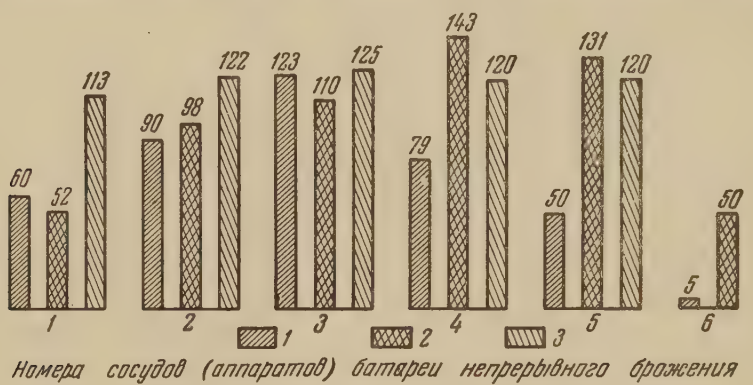


Рис. 2. Распределение дрожжевых клеток по стадиям брожения, осуществляемого непрерывным способом (в миллионах в 1 мл)

1 — при сбраживании сусла; *2* — то же с добавлением отрубей; *3* — при сбраживании пшеничного затора в заводских условиях

обходимо только, чтобы скорость притока питательной среды была согласована со скоростью размножения дрожжевых клеток. Оказалось, что при 12-часовом брожении и различном числе оборотов жидкости в сосуде (от одного до 3,5 раза за сутки) удалось установить относительно равномерное и постоянное размножение дрожжевых клеток. Так, например, в начале непрерывного притока сусла в 1 мл бражки содержалось 95, 70, 102 и 97 млн. дрожжевых клеток, а после 12-часового брожения их количество составляло соответственно 101, 89, 81 и 86 млн. Относительно постоянное содержание дрожжевых клеток в бражке удалось сохранить не только при кратковременном брожении, как указывалось выше, но и при длительном периоде, соответствующем 24, 48, 97 и 130 часам. Например, если в начале опыта в 1 мл бражки содержалось 101 и 91 млн. дрожжевых клеток, то после 48 и 97 часов брожения их количество составляло 95 и 83 млн. В другом опыте получена примерно такая же динамика размножения дрожжей, а именно: вначале при постоянном притоке сусла в 1 мл бражки содержалось 103 млн. дрожжевых клеток, через 89 часов их было 115 млн., через 110 часов — 119 млн., а в конце брожения, через 130 часов— 91 млн. Интенсивное размножение дрожжевых клеток обеспечивается даже при низком содержании сухих веществ (3,5—6,0% по сахарометру) и высокой концентрации спирта в бражке (4,5—6,5%).

В последующей стадии брожения, а именно во втором сосуде непрерывной установки, количество дрожжевых клеток или возрастает весьма незначительно (на 10—15%) или же остается без изменения. Однако распределяются дрожжевые клетки по сосудам по-разному, в зависимости от состава среды и ее консистенции. При сбраживании сусла или фильтрованного затора максимальное количество дрожжей содержится в бражке третьего сосуда (123 млн. в 1 мл). В бражке первого и пятого сосудов дрожжевых клеток содержится в два с лишним раза меньше, чем в бражке среднего сосуда.

Если в сусло внести пшеничные отруби в количестве 10 г на 180—200 мл, то максимум содержания дрожжей в бражке смещается в четвертый и пятый сосуды. При непрерывном способе сбраживания пшеничных заторов, которые по своей консистенции существенно отличаются от прозрачных сред, получается приблизительно равное содержание дрожжевых клеток на всех стадиях брожения (рис. 2).

Потребление азота дрожжами осуществляется, как и размножение дрожжевых клеток, в основном, в начальном сосуде непрерывной установки, вследствие чего содержание азота в бражке последующих сосудов остается без изменения, а в отдельных опытах оно даже повышалось (табл. 3).

Таблица 3

Потребление азота дрожжами на различных стадиях и за разное время непрерывного способа сбраживания сусла или фильтрованного затора
(мг в 100 мл субстрата)

№ опыта	Форма азота	Продолжительность в часах	Номера сосудов батареи непрерывного брожения							Примечание
			1	2	3	4	5	Приемник	Среднее из всех сосудов	
1	Общий	46	33,6	44,8	39,8	39,2	—	—	39,35	Фильтрованный ржаной затор (14,5% сухих веществ по сахарометру)
		116	42,0	42,0	36,4	36,4	39,2	39,2	39,2	
		162	44,8	33,6	22,4	22,4	28,0	36,4	31,3	
		Среднее	40,1	40,1	32,9	32,7	33,6	37,8	36,6	
2	Общий	48	61,8	67,2	70,0	—	—	—	66,3	Солодовое сусло (17,5% сухих веществ по сахарометру)
		72	67,2	56,0	70,0	75,6	75,6	—	68,9	
		96	47,6	50,4	—	64,4	67,2	64,4	65,8	
		164	86,8	58,8	—	53,2	67,2	72,8	67,7	
		Среднее	67,2	58,1	70,0	64,4	70,0	68,6	67,2	
4	Общий	96	25,2	30,8	36,4	—	—	—	—	Солодовое сусло (16% сухих веществ по сахарометру)
1	Аминный	116	12,6	9,1	2,8	1,4	+2,1	—	4,8	
		162	5,6	3,5	+2,1	+1,4	2,2	0,7	1,4	
		Среднее	9,1	6,3	0,7	0,0	0,1	0,7	2,8	

В то же время количество азота в дрожжах снижалось по сравнению с исходным примерно в полтора-два раза. Повидимому, это объясняется выделением дрожжами азота в бражку, в результате чего вес дрожжевых клеток при дображивании бывает ниже, чем их вес в начальной стадии брожения. Например, в начальных сосудах 100 млн. дрожжевых клеток весили 8,3—13,1 мг, а в последних сосудах — только 4,2—5,5 мг, т. е. в конце брожения вес дрожжевых клеток снизился в полтора-три раза.

В отдельных опытах потребление азота не ограничивалось только бражкой первого сосуда, оно продолжалось и в последующих стадиях брожения. Например, в одном из многих опытов после четырехсуточного брожения было установлено, что в первом сосуде в 100 мл бражки было усвоено дрожжами 25,2 мг азота, во втором — 30,8 мг, а в третьем — 36,4 мг, т. е. около 70% всего азота было усвоено в начальном бродильном сосуде (табл. 3, опыт № 4).

Таблица 4

Содержание азота в дрожжах, отцентрифугированных из 100 мл бражки различных сосудов батареи непрерывного брожения (мг в 100 мл)

№ опыта	Продолжительность брожения в часах	Номера сосудов батареи непрерывного брожения							
		1	2	3	4	5	6	Приемник	Среднее из всех сосудов
1	21	47,2	62,3	50,1	40,9	10,5	4,2	—	35,87
	70	35,7	26,1	49,4	60,5	17,8	4,2	—	32,3
	Среднее	41,4	44,2	49,7	50,7	14,1	4,2	—	34,08
4	96	56,3	109,2	86,5	—	—	—	—	—

Необходимо отметить, что количество азота, потребленного дрожжами, колебалось в больших пределах, причем это имело место как в отдельных определениях одного и того же опыта (33,6 и 44,8 мг или 47,6 и 86,8 мг), так, особенно, в определениях различных опытов.

Например, максимальное количество азота, усвоенного дрожжами в 100 мл бражки, колеблется от 44,8 до 86,8 мг, а минимальное — от 25,2 до 33,6 мг. Колебания в потреблении азота объясняются, в основном, различной скоростью притока сусла и оборачиваемостью бражки в первом сосуде.

Если потребление азота учитывать не по разнице между содержанием его в сусле, непрерывно поступающем в начальный сосуд, и в бражке, а по содержанию его в дрожжах, то мы видим следующее. Как правило, больше дрожжей, а следовательно, и содержавшегося в них азота, приходится на долю бражки средних сосудов и, наоборот, меньше — в бражке первого и последних сосудов. Так, например, дрожжи, отделенные из 100 мл бражки первого сосуда, содержат в среднем 41,4 или 56,3 мг азота, дрожжи второго сосуда — 44,2 или 109,2 мг, дрожжи третьего сосуда — 49,7 или 86,5 мг, четвертого сосуда — 50,7 мг и т. д. (табл. 4).

Следовательно, азота в дрожжах первого и последних сосудов содержалось меньше, чем в дрожжах из средних сосудов.

Содержание аминного азота в субстрате при непрерывном брожении мало изменяется в сторону его снижения, а в отдельных случаях оно даже возрастает (табл. 3), несмотря на то, что потребление азота при сбраживании крахмалистых сред осуществляется, как это было установлено ранее [4], в основном за счет аминного азота. Поэтому наряду с потреблением аминного азота имеет место одновременно и его образование за счет гидролиза сложных азотистых веществ ферментами, выделяемыми, повидимому, дрожжами в субстрат.

Выводы

1. При многократном использовании дрожжей для спиртового брожения потребление азота, рассчитанное на определенное количество дрожжевых клеток, независимо от числа их возвратов, остается величиной относительно постоянной.

2. Потребление азота дрожжами при непрерывном способе брожения осуществляется преимущественно в начальной стадии его, в головном бродильном аппарате непрерывной батареи.

3. Содержание аминного азота в сбраживаемом субстрате при непрерывном брожении изменяется весьма незначительно. В начальной стадии брожения количество его снижается на 5,6—12,6 мг в 100 мл бражки, а при дображивании оно остается или без изменения, или даже возрастает по сравнению с его содержанием в исходном сусле.

4. При непрерывном брожении в период дображивания вес дрожжей, прошедших путь с бражкой от головного до последнего сосуда непрерывного аппарата, снижается. Повидимому, изменение веса дрожжей связано с использованием ими своих запасных веществ.

5. Размножение дрожжей по мере увеличения числа их возвратов для брожения относительно снижается. Однако прирост дрожжевых клеток не прекращается, а имеет место даже при 6—8-кратном возврате дрожжей и составляет в 1 мл бражки 300—400 млн. клеток.

6. Количество дрожжевых клеток, окрашивающихся метиленовой синью, возрастает по мере увеличения числа возвратов дрожжей и достигает 51% от общего их количества. Общее же количество жизнедеятельных дрожжевых клеток остается относительно постоянным.

Всесоюзный научно-исследовательский институт спиртовой промышленности
Москва

Получено 10. XII. 1954 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Белозерский А. Н. и Проскуряков Н. И. Практическое руководство по биохимии растений, изд-во «Сов. наука», М., 1951.
2. Вовк Е. А. и Светник Р. Ю. Многократное использование дрожжей при переработке патоки на спирт. Новое в науке и технике спиртового производства, вып. 1, М., 1940.
3. Климовский Д. Н. и Стабников В. Н. Технология спиртового производства. Пищепромиздат, М., 1950.
4. Коновалов С. А. Определение дозировок азота для питания дрожжей. Микробиология, XXI, вып. 3, 1952.
5. Лебедев С. В. Метод непрерывного спиртового брожения, Пищепромиздат, 1936.
6. Малченко А. Л. и Криштул Ф. Б. Переработка патоки на спирт с применением сусла одной концентрации. Тр. ВНИИСП, вып. 2, Пищепромиздат, М., 1952.
7. Mariller Ch., Mejane M., Martraire et Tourliere S. Fermention continue des mouts de betteraves. Ind. agr. et alimentaires, No 11, 775, 1952.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ГЛЮКОЗЫ БАКТЕРИЯМИ СКОРОГО СПОСОБА ПРОИЗВОДСТВА УКСУСА

М. С. Лойцянская

Использование глюкозы уксуснокислыми бактериями давно привлекает к себе внимание исследователей: одних — в связи с изучением химизма окисления глюкозы, других — с целью испытания возможностей получения продуктов окисления глюкозы с помощью бактерий, третьих — ввиду необходимости наиболее полного изучения биологии уксуснокислых бактерий, выяснения их функций в аэробных и анаэробных условиях, потребности в питательных веществах, витаминах и т. д.

Характерной особенностью бактерий рода Acetobacter является ярко выраженная способность осуществлять неполное окисление этилового и многоатомных спиртов и углеводов. Из последних им более всего свойственно окисление глюкозы в глюконовую кислоту.

Некоторые уксуснокислые бактерии производят более глубокое окисление глюкозы, образуя при этом *d*-5-кетоглюконовую кислоту или *d*-2-кетоглюконовую кислоту или обе эти кислоты (Бернгауер, Bernhauer [11]). Некоторые из них образуют небольшие количества альдегидглюконовой или *l*-глюкуроновой кислоты (Такахаши и Асаи, Takahashi a. Asai [18]).Катцнельсон и др. (Katznelson, Tannenbaum a. Tatum, [15]) недавно сообщили о том, что Acetobacter melanogenum окисляет глюкозу в 2-кетоглюконовую кислоту, а затем в 2,5-дикетоглюконовую. Использовав в качестве исходного вещества глюкозу с радиоактивным углеродом в альдегидной группе, они обнаружили этот изотоп частично в клетках бактерий, частично в карбоксильной группе 2,5-дикето глюконовой кислоты.

К наличию глюкозы в питательной среде уксуснокислые бактерии относятся далеко не безразлично и не однородно. Это отношение определяется, повидимому, как различной способностью использовать это соединение в качестве источника углерода, так и выносливостью к глюкозе и образующимся из нее кислотам. Танака (Tanaka, [20]) в своем исследовании установил, что оптимальная концентрация глюкозы для Bacterium aceti 0,9—1,8%. Однако некоторые виды уксуснокислых бактерий способны развиваться при более высокой концентрации глюкозы. Так Bact. hoshigaki var. glucuronicum, выделенный Такахаши и Асаи (Takahashi a. Asai, [19]), из сухих сладких плодов (фиников) и приспособленный, повидимому, к высокой концентрации сахара, развивается даже в 55% растворе глюкозы и дает большой выход глюконовой кислоты (до 103% от использованной глюкозы), что позволяет использовать этот организм, так же как другие виды уксуснокислых бактерий (Bact. gluconicum, Bact. industrium), для промышленного получения глюконата кальция (Прескот и Дэн, [8]).

Как видно из сказанного, уксуснокислые бактерии, являясь аэробами и обладая высокоактивными окислительными ферментами, подвергают глюкозу окислительным превращениям. Однако они способны использовать ее и в анаэробных условиях. Точными и убедительными опытами Симон (Simon, [17]) доказал, что в анаэробных условиях отмытые клетки уксуснокислых бактерий осуществляют десмолитическое расщепление глюкозы с образованием продуктов спиртового брожения — спирта и углекислоты в отношении 1 : 1 и, следовательно, используют глюкозу в своем энергетическом обмене не только путем прямого окисления, но в некоторых условиях и путем брожения.

О значении глюкозы как питательного вещества для уксуснокислых бактерий, об использовании ее в конструктивном обмене известно меньше. По мнению Хойера (Hoyer, [14]) глюкоза вполне удовлетворяет потребности уксуснокислых бактерий в углероде. Сравнение урожая бактерий при использовании различных источников углерода было произведено Тосик (Tosic, [21]). Найдено, что урожай клеток Acetobacter turbidans при использовании глюкозы в два раза меньше, чем при выращивании на этиловом спирте и в три раза меньше, чем на лактате натрия. Рейнбау и Митсон (Rainbow a. Mitson, [16]) испытали семь культур уксуснокислых бактерий и установили, что для трех из них лучшим источником углерода и энергии является молочная кислота, а для четырех других — глюкоза.

Геннеберг (Henneberg, [13]) указывал, что наилучший рост бактерий скорого способа производства уксуса и пивных уксуснокислых бактерий наблюдался в питательных

средах, содержавших наряду с уксусной кислотой и этиловым спиртом 1,5—3% глюкозы. Анненков [1] рекомендует внесение глюкозы в производственные аппараты уксусных заводов в качестве питательного вещества для бактерий, однако в очень малом количестве — около 0,0025% (на 100 л безводного спирта, подлежащего окислению, 500 г глюкозы). Работнова [9], наблюдая за бактериями скорого способа в миниатюрных аппаратах, подобных производственным, установила, что внесение глюкозы в аппараты в качестве дополнительного питания увеличивает их производительность в несколько раз. Нами было замечено [5], что в присутствии уксусной кислоты или спирта глюкоза активирует размножение бактерий скорого способа производства уксуса. Одновременно было выяснено, что в присутствии глюкозы уксусная кислота интенсивнее потребляется бактериями.

Вопрос о значении глюкозы в питании уксуснокислых бактерий еще недостаточно изучен. Между тем он имеет не только теоретическое, но и практическое значение в связи с вопросом о целесообразности использования глюкозы в качестве дополнительного питания уксуснокислых бактерий в производстве уксуса, в витаминном производстве, об условиях выращивания посевного материала и т. д.

В данном сообщении приводятся материалы наблюдений за использованием глюкозы бактериями скорого способа производства уксуса.

Объектом исследования служили следующие культуры уксуснокислых бактерий Bact. schüzenbachii, Bact. curvum, Bact. aceti. Все эти бактерии могут быть отнесены к группе уксуснокислых бактерий скорого способа производства уксуса как по своему происхождению — из аппаратов уксусных заводов, так и по наиболее характерному их признаку — способности хорошо развиваться в синтетических средах, содержащих из органических веществ только этиловый спирт или уксусную кислоту. Опыты проводились как в минеральных синтетических средах Бейеринка и Тосика, так и в дрожжевой воде, к которым добавлялись соответствующие углеродосодержащие соединения.

Изучаемые бактерии, прекрасно развиваясь в минеральных средах со спиртом, очень плохо росли на тех же средах с глюкозой, даже в количестве 1—2%. Особенно плохой рост наблюдался после второго или третьего пересевов в среде с глюкозой. В этих условиях бактериальная пленка никогда не была сплошной, на поверхности образовывались мельчайшие углеродсодержащие соединения.

В дрожжевой воде с глюкозой рост был также гораздо хуже, чем в минеральной среде со спиртом, хотя несколько лучше, чем в минеральной среде с глюкозой.

Желая установить причины плохого роста бактерий в питательных средах, содержащих глюкозу в качестве единственного источника углерода, мы в первую очередь занялись выяснением вопроса о том, какое значение здесь может иметь pH среды. В литературе имеются указания на то, что использование некоторых соединений углерода уксуснокислыми бактериями в значительной степени определяется концентрацией водородных ионов в питательной среде. Так, по данным Дратвиной [2] и Bact. rancens и Bact. vini acetati развиваются за счет уксусной кислоты, но при различной концентрации водородных ионов: первый хорошо растет при pH = 3,1 — 4,2, при pH = 5,0 рост его отсутствует, а второй — не дает роста при pH = 3,5—4,3 и хорошо растет только при pH выше 5,0. На этом основании можно было предположить, что плохой рост бактерий в среде с глюкозой объясняется неподходящей реакцией среды и высокой чувствительностью бактерий к недиссоциированной глюконовой кислоте. Поэтому мы провели наблюдения за размножением (Bact. schüzenbachii) в питательных средах со спиртом и с глюкозой с различным начальным pH, а также в питательной среде с мелом [1].

Опыты проводились в колбах, содержащих 30 мл минеральной среды Бейеринка. Фосфатная буферная смесь добавлялась в количестве 10%

[1] В постановке этих опытов принимала участие студентка Н. Н. Бочарова.

от объема среды. Спирт — в количестве 3%, глюкоза — 1%. Посев производился петлей. Определение конечного pH и количества клеток проводилось на седьмой день. Развиваясь на поверхности жидкости Bact. schüzenbahii образуют пленку, распадающуюся при встряхивании на мелкие кусочки, разбить которые на отдельные бактериальные клетки в живом состоянии не удается. Для количественного учета бактерий приходилось их убивать кипячением, во время которого пленка распадалась и бактерии можно было просчитывать как по Бриду, так и в счетной камере. Содержимое колбы после кипячения доводилось до определенного объема и после подсчета клеток производился перерасчет на площадь поверхности, которую занимала бактериальная пленка. В опытах, результаты которых приведены в табл. 1, количество бактерий определялось по методу Брида.

Таблица 1

Размножение Bact. schüzenbachii при различной концентрации водородных ионов питательной среды

№ опыта	Источник С в среде	pH в начале опыта	pH в конце опыта	Количество бактерий в млн. в 1 см² пленки
1	Спирт	4,50	2,90	638,3
		5,70	3,00	421,4
		6,70	3,20	334,0
		7,90	3,20	158,8
2	Спирт	4,50	3,00	489,5
		5,70	3,00	301,8
		6,70	3,20	284,5
		7,90	3,20	100,4
3	Глюкоза . . .	4,94	3,00	10,6
		5,91	3,00	16,8
		6,98	3,20	18,5
		8,04	3,60	14,1
4	Глюкоза . . .	5,00	3,40	18,1
		6,00	3,40	14,0
		7,00	3, 0	21,1
		8,00	3,60	23,7

В питательной среде с глюкозой при добавлении мела, где концентрация водородных ионов с начала опыта и до его конца оставалась нейтральной и, где, таким образом, исключалось влияние не только кислой реакции, но и недиссоциированной глюконовой кислоты, бактерии также развивались плохо, никогда не образуя сплошной пленки. Приведенные данные говорят о том, что плохой рост Bact. schüzenbachii в питательной среде с глюкозой определяется не снижением pH среды. В одних и тех же условиях pH при использовании уксусной кислоты бактерии размножаются в 30—40 раз интенсивнее, чем при использовании глюкозы.

Добавление к питательной среде с глюкозой соединения углерода, содержащего два или три углеродных атома: 0,1—0,01% спирта, уксусной кислоты, молочной кислоты и их солей, резко изменяло условия размножения бактерий. В табл. 2 приведены данные опыта, в котором к глюкозе добавлялась молочная кислота и молочнокислый натрий. Для определения количества бактериальной массы мы в этом опыте воспользовались следующим методом. Выросшие бактерии собирались на мем-

бранном фильтре и вместе с фильтром сжигались для определения общего азота по микрометоду Кьельдаля. Среднее количество азота в самих фильтрах предварительно было определено (0,42 мг). Затем, приняв количество азота в бактериях за 7% от сухого веса, мы произвели пересчет полученных данных на вес бактериальной массы. Из данных, приведенных в табл. 2, мы видим, что при значении pH = 4,6 и 7, при наличии в питательной среде только глюкозы бактерии развиваются значительно хуже, чем при pH = 4,5, 5,0 и 6,5, но при наличии спирта или молочной кислоты. Это убеждает нас в том, что плохое усвоение глюкозы бактериями скорого способа производства уксуса не определяется концентрацией водородных ионов.

Таблица 2

Увеличение бактериальной массы Bact. schüzenbachii в зависимости от pH питательной среды при использовании различных соединений углерода

Показатели роста	Исходное pH								
	6,0	4,5	7,0	6,0	4,0	5,0	5,0	6,5	6,5
	Источник углерода								
	Спирт 3%		Глюкоза 1%			Глюкоза 1% + молочная кислота в %		Глюкоза 1% + молочнокислый натрий в %	
						0,1	0,01	0,1	0,01
Условный показатель роста	6	6	1	1	1	8	8	8	10
Азот бактерий в мг	3,5 4,1	— —	— —	0,26 0,32	— —	2,90 3,80	4,10 3,30	3,43 3,70	4,20 5,40
Сухой вес бактерий в мг (по расчету)	50,0 58,5	— —	— —	1,80 4,30	— —	41,40 54,30	58,50 47,10	48,80 52,90	60,0 77,0

Одновременно мы сочли необходимым выяснить состояние окислительно-восстановительного потенциала в питательной среде при использовании уксуснокислыми бактериями спирта, глюкозы и глюкозы при добавлении молочной кислоты в количестве 0,01%. По данным Любимова [6], при окислении спирта особенно в период размножения уксуснокислых бактерий резко снижается окислительно-восстановительный потенциал. Использование уксусной кислоты уже выросшими бактериями не приводит к снижению окислительно-восстановительного потенциала. В этих опытах мы воспользовались колориметрическим методом определения rH_2. К питательным средам мы добавляли индикаторы: 2-6-динитрофенол, метиленовую синюю и нильскую голубую, которые соответственно изменяют окраску при снижении rH_2 (динитрофенол ниже 20, метиленовая синяя — 14 и нильская голубая — 9,1). Индикаторы добавлялись в концентрации 0,05% по одной капле к 4 мл питательной среды в пробирке.

Исходное rH_2 использованных сред: со спиртом > 20, с глюкозой > 20, с глюкозой и с молочной кислотой в количестве 0,01% < 20, но выше 14. Это — условия вполне благоприятные для начала размножения аэробных бактерий. Как показали опыты в дальнейшем на 1-й и 2-й и даже на 7-й день rH_2 всех использованных питательных сред не опускалось ниже 14, так как метиленовая синяя и тем более нильская голубая

Таблица 3

Рост уксуснокислых бактерий скорого способа производства уксуса в питательных средах, содержащих глюкозу и различные соединения азота

Источник углерода	Источник азота	Интенсивность роста		
Глюкоза	Азотнокислый натрий	1	1	1
	Азотнокислый аммоний	1	1	1
	Фосфорнокислый аммоний	2	2	2
	Сернокислый аммоний	2	1	1
	Щавелевокислый аммоний	3	2	3
	Виннокислый аммоний	2	2	2
	Лимоннокислый аммоний	2	2	1
	Аспарагин	2	2	2
	Гликокол	2	2	2
	Пептон	3	4	3
	Дрожжевая вода	5	5	5
Спирт (контроль)	Сернокислый аммоний	10	10	10
	Фосфорнокислый аммоний	10	10	10

не обесцвечивались. В этих условиях аэробные бактерии имеют возможность хорошо развиваться.

Следовательно, худший рост Bact. schüzenbachii на среде с глюкозой по сравнению с пышным ростом, который наблюдается при наличии в питательной среде дополнительно молочной кислоты, не может быть объяснен несоответствием rH_2 среды требованиям этих бактерий.

В свое время Хойер (Hoyer, [14]), а также Бейеринк (Beijerinck, [10]) указывали на существование связи между углеродным и азотным питанием уксуснокислых бактерий.

Мы испытали отношение Bact. schüzenbachii, Bact. curvum, Bact. aceti к глюкозе в синтетической питательной среде с различными азотистыми соединениями. Данные этих опытов представлены в табл. 3. Интенсивность роста бактерий выражена в условных показателях по десятибальной системе: 1 — едва заметный рост; 2 — слабый рост; 3 — отдельные островки на поверхности жидкости; 4 — островки пленки занимают $^1/_4$ поверхности жидкости; 5 — островки пленки занимают $^1/_3$ поверхности; 10 — обильная, сплошная пленка, покрывающая всю поверхность жидкости [2].

Как видно из этих данных, азотистый состав питательной среды в гораздо меньшей степени сказывается на развитии бактерий скорого способа производства уксуса, чем наличие того или иного углеродсодержащего соединения. В присутствии глюкозы бактерии гораздо хуже развиваются даже за счет тех азотистых соединений, которые имеются в дрожжевой воде, чем при использовании этилового спирта в синтетической питательной среде с аммонийной солью.

Таким образом, плохой рост бактерий скорого способа производства уксуса в синтетической питательной среде с глюкозой обусловлен не такими физико-химическими условиями среды, какими являются pH и rH_2 и не азотистым ее составом.

Несмотря на плохой рост в питательной среде с глюкозой Bact. schüzenbachii, Bact. curvum и Bact. aceti активно окисляют ее, образуя глюконовую кислоту. В табл. 4 и рис. 1 приводятся данные о ходе размножения Bact. schüzenbachii и окисления ими глюкозы. Для сравнения приведены данные о размножении и окислительной деятельности Bact.

[2] В этой части работы принимала участие студентка О. М. Паринкина.

schüzenbachii при использовании ими спирта. Опыты проводились в конических колбах, в которые наливалось по 25 мл среды, содержащей 2% глюкозы или 2% спирта. Определение количества бактерий, уксусной и глюконовой кислот производилось на 1-й, 2-й, 3-й и 4-й дни. Уксус-

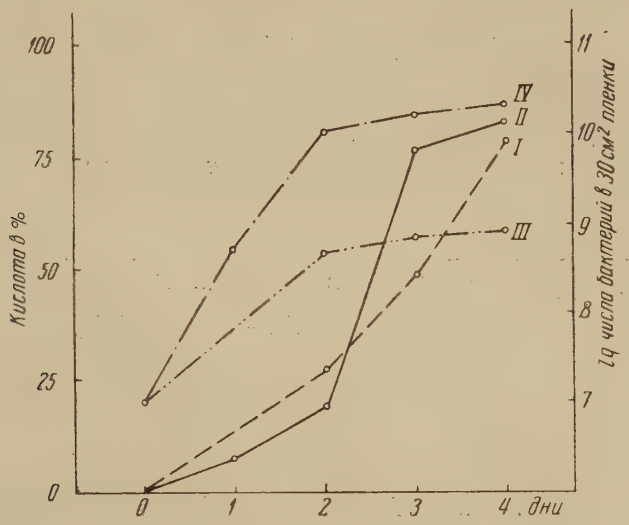


Рис. 1. *I* — глюконовая кислота в %; *II* — уксусная кислота в %; *III* — логарифм числа бактерий в 30 см² пленки в питательной среде с глюкозой; *IV* — логарифм числа бактерий в 30 см² пленки в питательной среде со спиртом

ная кислота определялась по Дюкло, а глюконовая — путем перевода в Са глюконат и определения Са, осаждением его щавелевой кислотой и титрованием перманганатом.

Таблица 4

Размножение и окислительная активность Bact. schüzenbachii в минеральной среде с глюкозой или со спиртом

Источник углерода в мг	Длительность опыта в сутках	Образовалось уксусной кислоты		Образовалось глюконовой кислоты		Количество бактерий
		в мг	в %	в мг	в %	в млн в 30 см² пленки
Глюкоза 500	0 (до опыта)	—	—	—	—	10
	2	—	—	150,2	27,6	460
	3	—	—	262,4	48,3	720
	4	—	—	424,3	78,0	832
Спирт 500	0 (до опыта)	—	—	—	—	10
	1	47	7,2	—	—	500
	2	124	19,0	—	—	10200
	3	495	76,0	—	—	16200
	4	539	82,6	—	—	19050

При использовании спирта в качестве источника углерода количество бактерий в пленке увеличивается в первые и вторые сутки в тысячу раз. Когда же размножение замедляется, уксусная кислота накапливается в большем количестве.

Наблюдая за соотношением процессов размножения и кислотообразования Bact. vini aceti, Иерусалимский [3] также отметил тот факт, что

вначале кислотообразование происходило медленнее, чем размножение, а в дальнейшем накопление кислоты сильно ускорялось. Козловский [4], изучавший размножение и образование уксусной кислоты в глубинных условиях при усиленной аэрации, также сообщил, что в первые 30 часов, когда интенсивно идет размножение бактерий, кислотообразование задерживается; когда же размножение затухает, кислотообразование до 48 часов продолжает возрастать.

Мы объясняем это тем, что при энергичном размножении бактерий, образуемая ими уксусная кислота используется в конструктивных реакциях. Позднее, когда окисление осуществляется в значительной степени не растущими и не размножающимися клетками, уксусная кислота меньше используется и в больших количествах накапливается в окружающей среде.

В нашем опыте при использовании глюкозы количество бактерий за двое суток увеличилось только в 46 раз и в дальнейшем возрастало очень медленно. На четвертые сутки количество бактерий было в 20 раз меньше, чем при использовании уксусной кислоты. Несмотря на это, окислительная активность бактерий в этих условиях была очень высокой, так как это относительно небольшое количество бактерий давало 75—80% глюконовой кислоты из использованной глюкозы. Следовательно, окисление глюкозы интенсивно осуществляется и не размножающимися бактериями и даже более интенсивно, чем в период их размножения. На вторые сутки 1 млн. бактерий накапливал 0,32 мг глюконовой кислоты, а на четвертые 0,5 мг. Аналогичное явление наблюдала Митюшова [7]: в обедненных азотистыми веществами питательных средах, при замедлении размножения окислительная деятельность Ac. suboxydans повышалась.

Таким образом, наши данные говорят о том, что как при окислении спирта, так и в более выраженной форме при окислении глюкозы наиболее активно окислительный процесс осуществляют медленно размножающиеся или даже совсем не размножающиеся бактерии. Это, безусловно, заслуживает внимание, хотя бы потому, что в связи с этим возникает ряд вопросов о том, в каком состоянии бактерии скорого способа наиболее активно окисляют спирт в производственных аппаратах: размножающиеся или не размножающиеся, нужно ли активировать в аппаратах процесс размножения или, напротив, в какой-то период целесообразно его ограничивать, когда использовать дополнительное питание и т. п.

Сообщенное выше привело нас к предположению, что для бактерий скорого способа производства уксуса глюкоза имеет ограниченное значение как питательное вещество, но вместе с тем может активно использоваться как энергетический материал, окисляясь в глюконовую кислоту. Бактерии предпочтительно используют для конструктивных процессов вещества, содержащие два или три углеродных атома (уксусную, молочную кислоту и их соли) и в отсутствие этих веществ в минеральной среде не способны осуществлять десмолитическое расщепление глюкозы.

Однако при наличии в питательной среде кроме глюкозы еще веществ, содержащих два или три углеродных атома — спирта, уксусной кислоты, молочной кислоты или их солей, глюкоза не только окисляется в глюконовую кислоту, но, повидимому, используется и в других реакциях возможно конструктивного значения. Об этом говорят данные опытов, в которых мы в питательную среду добавляли наряду с глюкозой небольшое количество спирта или уксусной кислоты и учитывали в этих условиях количество использованной глюкозы и образующейся глюконовой кислоты. Результаты одного из таких опытов представлены в табл. 5.

Полученные данные мы объясняем следующим образом. В присутствии небольших количеств уксусной кислоты или спирта использование глюкозы протекает иначе, чем когда только глюкоза имеется в питатель-

Таблица 5

Использование глюкозы Bact. schüzenbachii при наличии в питательной среде уксусной кислоты

(Глюкозы — 1%, уксусной кислоты — 0,5%)

Длительность опыта в сутках	Уксусная кислота в мг	Глюконовая кислота в мг	Глюкоза в мг			
			Осталось	Использовано		
				всего	на образов. глюконовой кислоты	на другие процессы
До опыта	125	—	250	—	—	—
1	92	—	168	82	—	—
2	12	38	110	140	34,9	105,1
3	5	63	81	169	57,9	111,1
4	—	84	74	176	77,2	98,8
5	—	142	50	200	130,5	69,5
7	—	165	—	—	—	—

ной среде. В первые дни уксусная кислота быстро потребляется. Бактерии в это время интенсивно размножаются. В опыте, который приведен, на третий день осталось только 5 мг уксусной кислоты. В этих условиях,

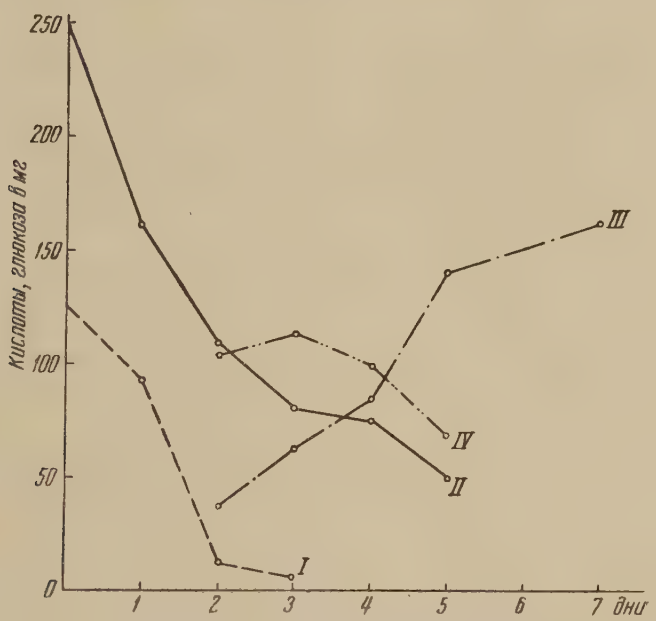


Рис. 2. *I* — уксусная кислота в мг; *II* — глюкоза в мг; *III* — глюконовая кислота в мг; *IV* — расход глюкозы в мг на другие процессы, кроме образования глюконовой кислоты (по расчету)

повидимому, глюкоза также вовлекается в конструктивный обмен. Размножающиеся бактерии используют значительную часть глюкозы (до 75%), не образуя при этом из нее в качестве конечного продукта глюконовую кислоту. Когда же размножение приостанавливается, глюкоза преимущественно превращается в глюконовую кислоту. Это четко видно на рис. 2, где кривая *IV* отражает использование глюкозы на другие процессы кроме образования глюконовой кислоты, вычисленное по разности.

Мы пока не знаем, каким образом используется глюкоза в период размножения, какие промежуточные продукты при этом образуются и можем только высказать предположение, что в этих условиях глюкоза подвергается десмолитическому расщеплению. Возможно, что здесь имеет место окислительная ассимиляция. Указания на возможность подобного пути использования глюкозы уксуснокислыми бактериями, сопровождающееся выделением CO_2, мы находим в работах Батлин (Butlin, [12]), который показал, что выращивая Ac. suboxydans в различных условиях среды: с мелом и без мела, можно направленно изменять их ферментативный аппарат и получать культуры с различным характером энергетического обмена. Бактерии, выращенные без мела, обладают ферментами, катализирующими простой окислительный процесс. Воздействуя на глюкозу, они не выделяют CO_2 и поглощают кислород соответственно образованию глюконовой кислоты. Бактерии, выращенные с мелом, выделяют CO_2 и поглощают кислород соответственно выделяющейся углекислоте. Батлин считает, что образование CO_2 связано с использованием глюкозы в конструктивных процессах, происходящих одновременно с ее окислением.

Дальнейшее изучение физиологии уксуснокислых бактерий должно показать, в какой степени высказанные предположения являются обоснованными.

Выводы

1. Бактерии скорого способа производства уксуса — Bact. schüzenbachii, Bact. curvum, Bact. aceti значительно хуже растут в питательных средах с глюкозой, чем со спиртом, с уксусной или с молочной кислотой.

2. Плохой рост этих бактерий в питательных средах с глюкозой не зависит от их азотистого состава. При наличии азотнокислых и аммонийных солей, пептона, аспарагина, азотистых веществ дрожжевой воды и имеющихся в последней витаминов и витаминоподобных веществ рост бактерий в средах с глюкозой всегда хуже, чем со спиртом, с уксусной или с молочной кислотами и с их солями.

3. Плохой рост Bact. schüzenbachii в питательных средах с глюкозой не обусловлен несоответствием pH этих сред требованиям бактерий.

4. Окислительно-восстановительный потенциал среды при развитии уксуснокислых бактерий как при использовании ими спирта, так и при использовании глюкозы и глюкозы с молочной кислотой не снижается ниже 14.

5. Несмотря на плохое развитие бактерий скорого способа производства уксуса в питательных средах с глюкозой, они способны в этих условиях ее активно окислять. Неразмножающиеся бактерии более активно окисляют глюкозу, чем в период их размножения.

6. При наличии в питательной среде, кроме глюкозы, спирта, молочной или уксусной кислоты, в период размножения культуры Bact. schüzenbachii значительная часть глюкозы расходуется не на образование глюконовой кислоты, а, вероятно, используется в процессах, имеющих значение в конструктивном обмене бактерий. Когда же размножение приостанавливается, бактерии превращают глюкозу преимущественно в глюконовую кислоту.

Ленинградский государственный университет
им. А. А. Жданова

Получено 27.I.1955 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Анненков М. Г. Производство уксуса. Пищепромиздат, 1951.
2. Дратвина Т. В. Окисление уксуснокислыми бактериями спирта и уксусной кислоты в зависимости от pH и других условий среды. Микробиология, VI, вып. 4, 1937.

3. Иерусалимский Н. Д. Связь между кислотообразованием и развитием уксуснокислых бактерий. Микробиология, VIII, вып. 2, 1939.
4. Козловский Г. И. Биохимическое окисление этилового спирта в уксусную кислоту в глубинных слоях. Сб. трудов конф. Ин-та биохимии АН УССТ и Укр. научно-иссл. ин-та пищ. пром., Киев, 1951.
5. Лойцянская М. С. и Гурфель Д. Б. Влияние глюкозы на накопление уксусной кислоты уксуснокислыми бактериями. Тр. Лен. о-ва естествоиспыт., LXX, вып. 3, 1950.
6. Любимов В. И. Окислительно-восстановительный потенциал в культурах уксуснокислых бактерий. Микробиология, XIX, вып. 1, 1950.
7. Митюшова Н. М. О соотношении процессов размножения и окисления у Ac. suboxydans в зависимости от состава среды. Микробиология, XXII, вып. 3, 1953.
8. Прескот С. и Дэн. С. Техническая микробиология. Изд-во иностр. лит-ры, 1952.
9. Работнова И. Л. Влияние внешних условий на уксуснокислое брожение. Микробиология, XIII, вып. 4, 1944.
10. Beijerinck M. Über die Arten der Essigbakterien Ztbl. Bakt. Abt. II, 4, 211, 1898.
11. Bernhauer K. Biochemie der Essigbakterien Erg. Enzym. 7, 246, 1938.
12. Butlin K. Enzyme system of B. suboxydans. Bioch. Journ. 32, No. 7, 1938.
13. Henneberg W. Handbuch der Gärungsbakteriologie. t. II, Essigbakterien, 1926.
14. Hoyer P. Bijdrage tot de kennis van de Azijnbakterien. Реф. Ztbl. Bakt. Abt. II, 4, 867, 1898.
15. Katznelson H., Tannenbaum S. a. Tatum E. Glucose, gluconate a. 2 ketogluconate oxydation by Acetobacter melanogenum, J. Biol. chem., 204, No. 1, 1953.
16. Rainbow C. a. Mitson G. Nutrition requirements of acetic acid bacteria. Journ. of general Bact., 9, No 3, 1953.
17. Simon E. Über das zymatische Systeme und die Wirkungen der Essigbakterien. Bioch. Ztschr., 224, 253, 1930.
18. Tanahashi T. a. Asai T. On glucuronic acid fermentation. p. I. Ztbl. S. akt. Abt. II, 84, 193, 1931.
19. Takahashi T. a Asai T. On glucuronic acid fermentation p. III, Abt. II, Ztbl. Bakt., 87, 385, 1939.
20. Tanaka K. Zur physiologie der Essigbakterien. Acta phytochimica, t. VII, No. 2, 1933.
21. Tosic J. Oxydations in Acetobacter. Bioch. Journ. 40, No 2, 1946.

β-НАФТОЛ В БОРЬБЕ С ПЛЕСНЕВЫМИ ГРИБАМИ, ПОРАЖАЮЩИМИ РАЗЛИЧНЫЙ КЛЕЙ НА БУМАГЕ И КАРТОНЕ

С. Г. Рыбакова

Известно, что клей, применяемый в книжном деле, является хорошей питательной средой для плесневых грибов. Последние, поселившись на книгах, могут вызвать их порчу.

Ввиду большого значения этого вопроса была поставлена задача подыскать такой антисептик, который при добавлении в клей препятствовал бы росту на нем плесневых грибов.

В качестве антисептика был испытан β-нафтол. Из положительных свойств β-нафтола следует указать на его практически малую летучесть. Благодаря этому качеству действие β-нафтола на вредные микроорганизмы является сравнительно продолжительным. К недостаткам β-нафтола надо отнести: 1) нерастворимость в воде и 2) способность изменять в сторону некоторого потемнения цвет пшеничного и картофельного клея. Но так как в переплетных и реставрационных мастерских клей обычно накладывается на бумагу тонким слоем, то этот дефект бывает почти незаметным.

Работа проводилась нами в двух направлениях. Сначала были установлены те концентрации β-нафтола в клее, которые препятствуют размножению в нем грибов [1, 2]. Затем была поставлена задача подыскать дозировки β-нафтола, задерживающие рост плесневых грибов на клее, нанесенном тонким слоем на различную бумагу и картон. Эти последние данные и излагаются в настоящей статье.

Исследования по первому разделу показали [1, 2], что для пшеничного и картофельного клея эффективной дозировкой β-нафтола является 0,5%, а для животного и декстринового — 0,3% от сухого веса клея. Наблюдения за протравленным клеем проводились: за пшеничным 10,5, за картофельным 6,5, за животным 9,5 и за декстриновым клеем 12,5 месяца. В течение этого времени опытные клеи, несмотря на неоднократное искусственное заражение их смесью активных спор нескольких видов грибов, не заплесневели.

Одновременно нами проводились наблюдения над влиянием β-нафтола на бактерии. Последнее учитывалось по росту осевших на клей бактерий из окружающей среды. Выяснилось, что бактерии менее чувствительны к β-нафтолу, чем плесневые грибы, и ядовитыми для них в пшеничном и животном клее оказались дозировки более высокие, а именно: для первого клея 0,7% и для второго — 0,6%. На картофельном же клее как для бактерий, так и для плесеней эффективной дозировкой β-нафтола хотя и была одна и та же дозировка 0,5%, однако при предыдущей дозировке β-нафтола в 0,4% на картофельном клее бактерии появились на 40 дней раньше, чем плесневые грибы. Это в свою очередь может служить некоторым показателем влияния β-нафтола на бактерии. Исключением является декстриновый клей, на котором бактерии росли очень слабо. Отдельные их колонии были обнаружены только при концентрации 0,1% β-нафтола.

Методика

В опытах применялись пшеничный, картофельный, животный (костный) и декстриновый клей. Бумага бралась низшего и высшего сорта, с текстом и без текста. Низший сорт: газеты за 1948 г., напечатанные в основном на балахнинской газетной бумаге, и газетная бумага ленинградской фабрики им. М Горького. Высший сорт: печатная архангельская бумага № 1 и книга из этой бумаги. Кроме того, в опыте испытывался

тонкий папочный без фабричной проклейки картон, который покрывался только животным клеем. Состав подопытных материалов следующий. Газетная бумага: древесной массы 70—75%, целлюлозы 25—30%; печатная бумага № 1 : целлюлозы 100%; картон: бурой древесной массы 100%.

Дозировки β-нафтола были взяты: для пшеничного клея 0,8%, для картофельного 0,6%, для животного 0,7% и для декстринового 0,4% от сухого веса клея, т. е. дозировки выше на 0,1% дозировок, способных задерживать развитие бактерий на первых трех видах клея, а для декстринового клея — по сравению с дозировкой, при которой прекращается рост плесневых грибов. Все образцы проклеивались очень тщательно с обеих сторон и у мест обрезов. Необходимые надписи на опытных образцах делались до проклеивания их, во избежание ранения слоя клея.

Контролем для всех опытов служили образцы бумаг и картона, покрытые тем же клеем без β-нафтола.

Опыты проводились в плотно закрывающихся деревянных ящиках, в которых создавались условия, аналогичные условиям сырого и теплого хранилища с относительной влажностью до 87% при температуре +18—20°. Образцы в ящиках развешивались на стеклянных палочках на расстоянии 2 см друг от друга, чтобы инфекция в случае заражения одних образцов не переходила на другие. Размер образцов равнялся 6 × 22 см. Их концы скреплялись суровой ниткой, пропитанной тем же клеем, что и образцы. Связанные образцы имели вид дуги, но с более приближенными друг к другу свободными концами. Повторность всех вариантов опытов была трехкратная.

Опытные образцы искусственно заражались смесью спор плесневых грибов из родов Aspergillus, Trichoderma и Stemphylium, которые наносились маленькой мягкой кисточкой на строго очерченный участок шириной в 3 см на верхних закругленных местах образцов. Испытанные грибы были в свое время выделены из книг. Для получения спорового материала грибы выращивались в чашках Петри на сусло-агаре, с которого споры снимались осторожно, чтобы не захватить вместе с ними агар.

Результаты опытов

Плесневение контрольных образцов началось довольно быстро, всего лишь через 10 дней. На небольшой части подопытных образцов, а именно: из газетной бумаги, из печатной бумаги и из книги из печатной бумаги, смазанных картофельным клеем, содержащим 0,6% β-нафтола от сухого веса клея, рост плесневых грибов не наблюдался в течение срока наблюдений за ними в 8 месяцев и 5 дней. На остальных опытных образцах первые признаки плесневения были отмечены спустя месяц. Повидимому, в тонком слое клея взятые дозировки β-нафтола оказались недостаточными для задержания развития плесневых грибов как на бумаге, так и на картоне.

Интересно отметить, что образцы бумаги, проклеенные клеем с β-нафтолом, плесневели постепенно в следующем порядке: образцы из газеты и газетной бумаги, затем из книги из печатной бумаги и, наконец, из самой печатной бумаги. При этом прежде рост плесневых грибов появлялся на образцах, покрытых пшеничным клеем (как наиболее питательным для них), за ним декстриновым и картофельным (последний только на газете) и позже всех на образцах бумаги, смазанных животным клеем. Однако животный клей на картоне плесневел одновременно с пшеничным клеем на образцах из газеты.

Полученные результаты заставили провести проверку влияния более высоких дозировок β-нафтола. Для испытания были взяты лишь газета, газетная бумага и картон как материалы, наиболее подверженные заражению. Образцы покрывались клеем с β-нафтолом, дозировки которого

для газеты и газетной бумаги теперь брались в 1,0; 1,5; 2,0; 2,5 и 3,0%, а для картона, кроме того, испытывались еще и дозировки в 3,5; 4,0; 4,5 и 5,0% от сухого веса клея.

Эти опыты дали следующие результаты. Образцы из газеты и газетной бумаги, покрытые испытанными видами клея, ни с одной из взятых теперь дозировок β-нафтола не заплесневели. Срок наблюдений за разными образцами из газеты и газетной бумаги был от 6,5 до 7,5 месяца. На всех образцах из картона, смазанных животным клеем с β-нафтолом в дозировках от 1,0 до 3,0%, плесневые грибы выросли, причем в опытах с меньшими дозировками раньше, а с бóльшими — позднее. Однако на опытных образцах с животным клеем, в который β-нафтол добавлялся в дозировках от 3,5 до 5,0%, рост плесневых грибов не наблюдался в течение 5,5 месяца.

Таким образом, опыты с повышенными дозировками β-нафтола показали, что этот антисептик может быть эффективным против плесневения клея на газете, газетной бумаге и на картоне.

Выводы

1. β-Нафтол может быть успешно использован для борьбы с плесневением бумаг и картона.

2. Эффективными дозировками β-нафтола являются следующие (из расчета по сухому весу клея): для пшеничного, картофельного, животного и декстринового клея на газете и газетной бумаге — 1,0%, для животного клея на картоне — 3,5%.

Научно-исследовательская лаборатория Государственной библиотеки им. В. И. Ленина

Получено 23.I. 1955 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. С. Г. Рыбакова. Предохранение от плесневения клея, применяемого при переплете и реставрации книг в библиотеках. Библиотекарь, № 11, 39, 1949.
2. С. Г. Рыбакова. Плесневые грибки на книгах и борьба с ними. Сборник материалов по сохранности книжных фондов, вып. 2, 48, 1953.

BACT. PRODIGIOSUM — НА ВЫКОРМКАХ ТУТОВОГО ШЕЛКОПРЯДА

Т. А. Мекленбурцева

Bact. prodigiosum, «чудесная палочка»,— широко распространенная в природе бактерия, обитающая в воде, почве и на различных органических субстратах. Колонии ее окрашены в розовый и красный цвет и напоминают пятна крови.

Такие кровавокрасные и розовые пятна, вызванные этой бактерией, были обнаружены на поверхности коконов тутового шелкопряда, собранных в червоводнях Одесской области в 1950 г.

В 1952 г. на выкормках тутового шелкопряда этой же области количество коконов с красными пятнами значительно увеличилось. При этом пятна имели различные оттенки: от светлокрасного и алого цвета до темнокрасного с бурым оттенком.

В 1954 г. в Хмельницкой области, во время вспышки эпизоотии мертвенности и желтухи, на выкормках тутового шелкопряда были обнаружены погибшие гусеницы, окрашенные в малиновый и бледнорозовый цвет.

И, наконец, в этом же году в Полтавской области, в колхозе им. Ленина (с. Саловка) среди гусениц пятого возраста началось массовое заболевание, окончившееся гибелью всей выкормки в течение короткого срока. При этом погибшие гусеницы, стеллажи, остатки корма и подстилочная бумага — все было окрашено в красный цвет. Наличие коконов на выкормках, покрытых кровавокрасными или розовыми пятнами, а также необычная окраска погибших гусениц вызвали естественное беспокойство шелководов, что и побудило нас заняться выяснением возбудителя данного заболевания тутового шелкопряда.

В литературе по шелководству есть указание на то, что Bact. prodigiosum, как сапрофит, встречается в кишечнике гусеницы тутового шелкопряда. Штибин [3] в своей работе, посвященной бактериозам тутового шелкопряда, отмечает, что сапрофитная форма этого микроба способна внедряться в организм здоровых гусениц, вызывая септицемию.

В учебнике «Шелководство» Михайлова [1] также указывается на то, что музейная культура «чудесной палочки» при искусственном заражении вызывает гибель гусениц тутового шелкопряда, а подсадка зараженного материала к здоровым гусеницам привела к их полному уничтожению.

Штейнхауз [2] указывает на то, что Bact. prodigiosum наблюдается довольно часто в лабораториях и инсектариях, где вызывает покраснение мертвых шелковичных червей и ряда других насекомых, восприимчивых к этой форме бактерии. Штейнхауз отмечает противоречивость имеющихся данных о патогенности Bact. prodigiosum в отношении шелковичных червей.

Экспериментальная часть

Для решения вопроса о патогенности Bact. prodigiosum для тутового шелкопряда и установления причины возникновения пятен различного размера и оттенков на поверхности коконов были использованы коконы и погибшие гусеницы, привезенные из Одесской и Хмельницкой областей.

В лабораторных условиях проводилось изучение морфологических и культурных свойств Bact. prodigiosum, а также проверялись ее патогенные свойства в отношении гусениц тутового шелкопряда.

Для того чтобы убедиться, что красные пятна на коконах и розовый цвет погибших гусениц вызваны именно Bact. prodigiosum, делались со-

скобы с поверхности коконов, а также мазки из погибших гусениц и наносились на предметные стекла. Мазки фиксировалась на пламени спиртовки и окрашивались метиленовой синью.

При исследовании препаратов под микроскопом оказалось, что все поле зрения сплошь было покрыто бактериями, длина которых равнялась 0,5—1 μ, а ширина около 0,5 μ.

При посеве на скошенном нейтральном агаре наблюдалась характерная для Bact. prodigiosum картина: сначала появились круглые, мелкозернистые колонии, которые сливались, образуя сплошную колонию сочного, густокрасного цвета с металлическим блеском. С течением времени в некоторых пробирках с посевами колонии теряли свою окраску, бледнели или становились полностью бесцветными.

При выращивании чистой культуры в пробирках на скошенном агаре наблюдалось интересное явление: если в пробирку с уже хорошо развитой яркокрасной колонией «чудесной палочки» проникали споры грибка (рода Penicillium или Mucor), то мицелий последних развивался очень медленно. Гифы и споры гриба находились лишь в передней части пробирки, не распространяясь далее черты посева.

В данном случае определенно сказались антибиотические свойства бактерии, задеживающие развитие гриба.

После получения чистой культуры были поставлены опыты по изучению ее патогенных свойств.

С этой целью ставились следующие варианты опытов:

1. Определялась возможность возникновения у гусениц тутового шелкопряда септицемии при введении им в кровь Bact. prodigiosum.

2. Определялась возможность возникновения у гусениц мертвенности при введении им в кишечник данной культуры.

Для проведения опытов первого варианта была взята партия гусениц пятого возраста в количестве 150 штук и разделена на пять групп по 30 гусениц в каждой.

Первой группе гусениц непосредственно в гемолимфу пастеровской пипеткой вводилась взвесь культуры Bact. prodigiosum в дестиллированной воде. Второй группе гусениц взвесь наносилась на поврежденную поверхность кожи, для чего иглой делались легкие царапины на задней ложноножке. Третьей группе взвесь бактерии наносилась на неповрежденную кожу. Четвертой группе в гемолимфу вводился физиологический раствор. Пятая группа представляла незараженный контроль. Все варианты находились в одинаковых нормальных условиях выкормки.

Результаты наблюдений

Результаты введения бактерий в гемолимфу сказались в короткий срок. Гусеницы перестали есть, стали малоподвижными. Через сутки были обнаружены первые погибшие гусеницы, сначала имевшие розовый оттенок, постепенно перешедший в интенсивно розовую окраску. Отмечался процесс быстрого распада тканей и превращение погибших гусениц в мешочки, наполненные розовой полужидкой массой.

Опыты, поставленные со второй группой гусениц, дали такие же результаты. Разница заключалась лишь в более медленном течении болезни. Массовая гибель гусениц наблюдалась на третьи сутки. И если в первом случае все гусеницы погибли от септицемии, то во втором — несколько гусениц остались живыми и завили коконы. В данном случае сказалось количество вводимой бактериальной взвеси и способ ее введения.

В третьей группе отмечены единичные случаи гибели гусениц без покраснения трупов.

В четвертой группе и контроле гибели гусениц не наблюдалось.

Окраска погибших гусениц, а также микроанализ их подтвердили наличие у них септицемии. Исследование гемолимфы, 12 часов спустя после

введения в нее Bact. prodigiosum, показало массовое развитие этой культуры в крови и отсутствие ее в кишечнике.

Гистологические исследования подтвердили также, что гусеницы погибли от септицемии. Поверхностный слой кожи имел бледнорозовый оттенок, под кожей находилась окрашенная в яркокрасный цвет разложившаяся масса. В то же время середина среза — мышцы и содержимое кишечника оставались темными и плотными.

Таким образом, проведенные наблюдения приводят к выводу, что «чудесная палочка», проникая через поврежденную поверхность кожи, вызывает гибель гусениц тутового шелкопряда от септицемии.

Второй вариант опыта определил возможность развития у гусениц кишечного заболевания — мертвенности, вызванной «чудесной палочкой».

Поскольку из литературных данных и практики шелководства хорошо известно, что вызываемые бактериями кишечные заболевания у гусениц возникают, как правило, при неблагоприятных условиях: повышенной температуре и влажности, недостаточной аэрации, недоброкачественном корме, чрезмерном скоплении подстилки и экскрементов,— были поставлены следующие варианты опыта. Партии гусениц, конца пятого возраста, в количестве 100 штук, были даны листья, обильно смоченные разведенной культурой Bact. prodigiosum. Выкормка проводилась в помещении при температуре 30—33° и влажности 90—95%, причем подстилка не убиралась, помещение не проветривалось.

Вторая партия гусениц также получала лист, смоченный этой культурой, но была помещена в нормальные условия выкормки.

Опыт сопровождался двумя контролями:

1. Гусеницы из той же партии получали незараженный корм и выкармливались согласно инструкции.

2. Гусеницы также получали незараженный корм, но находились в провокационных условиях выкормки.

Результаты опыта по выяснению патогенных свойств Bact. prodigiosum

Варианты опыта	Число гусениц в опыте	Условия выкормки	Число погибших гусениц
Скармливание зараженного листа	100	Провокационные . . .	92
То же	100	Нормальные .	3
Контроль — скармливание незараженного листа	75	» .	0
То же	100	Провокационные . . .	34

Из приведенной таблицы видно, что среди контрольных гусениц заболеваний не было.

Во втором контроле гусеницы начали болеть перед самой завивкой, и большая часть их погибла в коконах. Однако ни внешние признаки болезни, ни микроанализ погибших гусениц и куколок не показали наличия «чудесной палочки». Гибель, в основном, была вызвана полиэдрией и единично споровыми бактериями.

Среди гусениц, получивших листья, смоченные разведенной культурой Bact. prodigiosum, и находившихся в провокационных условиях, эпизоотия мертвенности началась на третий день. Погибшие гусеницы в первые сутки имели темный цвет, затем началось постепенное их покраснение.

Так же как и при введении Bact. prodigiosum в кровь, у погибших гусениц наблюдался распад тканей и превращение их в мешочки, наполненные полужидкой красной массой.

В результате выкормки получено всего восемь коконов, из которых половина оказалась недовитых.

При микроанализе гусениц, заболевших в результате введения Bact. prodigiosum, последняя была обнаружена в начале заболевания в кишечнике гусениц и лишь в конце болезни в гемолимфе.

Гусеницы, кормившиеся листьями, смоченными культурой Bact. prodigiosum, но находившиеся в нормальных условиях выкормки, дали лишь единичные случаи гибели, сопровождавшиеся покраснением трупов.

Полученный результат подтверждает данные о том, что выкормки, проводимые на высоком зоотехническом уровне, способствуют сопротивляемости организма гусениц, чем и предотвращаются кишечные заболевания.

Доказательством того, что Bact. prodigiosum развивается при тех же условиях, что и возбудители других болезней, и сопутствует им, служит результат анализов коконов, полученных из Одесской области.

Вскрытие коконов, покрытых красными пятнами, показало, что: 1) почти во всех коконах находились погибшие гусеницы или куколки, в которых при микроанализе были обнаружены полиэдры желтухи или споровые бактерии; 2) лишь в единичных коконах находились неокуклившиеся гусеницы, гибель которых была вызвана «чудесной палочкой»; 3) часть куколок была здоровой.

Эти данные свидетельствуют также о том, что быстро протекающее заболевание, вызванное Bact. prodigiosum, как правило, не дает возможности гусеницам дойти до завивки. Наличие пятен на поверхности коконов является результатом внешнего загрязнения их красной жидкостью. При постановке опытов с искусственным заражением выкормок можно наблюдать, как из повисших на коконниках погибших гусениц вытекает алая жидкость и капает на ранее завитые коконы. В том случае, когда на поверхность кокона попадает небольшая капля, образуется небольшое бледно-розовое пятно. Большие, насыщенные пятна, возникают, когда разложившиеся гусеницы падают с коконника и прилипают к поверхности кокона.

Таким образом, обитающая на выкормках тутового шелкопряда Bact. prodigiosum, как правило, является формой сапрофитной. Однако при неблагоприятных условиях внешней среды: повышение температуры с одновременным повышением влажности, нарушением режима питания, ведущих к ослаблению организма гусениц,— сапрофит становится паразитом и наряду с возбудителем желтухи и мертвенности может быть причиной гибели гусениц и появления кровавых пятен на поверхности коконов.

Выводы

1. Bact. prodigiosum, обитающая на выкормках тутового шелкопряда, как правило, является сапрофитной формой.

2. При неблагоприятных условиях выкормки, ведущих к ослаблению организма, этот микроорганизм, попадая в кишечник, может вызвать мертвенность, сопровождающуюся покраснением погибших гусениц.

3. Проникновение Bact. prodigiosum через поврежденные кожные покровы вызывает гибель гусениц от септицемии.

4. Появление красных пятен на поверхности коконов вызывается, в основном, наружным загрязнением их жидкостью, вытекающей из гусениц, погибших от заболевания, вызванного Bact. prodigiosum.

5. Проведение выкормки на высоком агротехническом уровне предохраняет гусениц от заболевания и, в частности, от болезней, вызываемых Bact. prodigiosum.

Украинская научно-исследовательская станция шелководства
Мерефа

Получено 14. I. 1955 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Михайлов Е. Н. Шелководство. Сельхозгиз, 1950.
2. Штейнхауз. Патология насекомых. Изд-во иностр. лит-ры, М., 1952.
3. Штибин В. Д. Бактериозы гусениц тутового шелкопряда. Ташкент, Саогиз, 1934.

ДИСКУССИЯ

О СЕЗОННОСТИ И ПЕРИОДИЧНОСТИ РАЗВИТИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ В ПОЧВЕ

С. А. Самцевич

Изучение сезонности распространения и деятельности микробного населения в почве представляет не только теоретический интерес, но имеет и большое практическое значение. Оно тесно связано с выяснением роли микроорганизмов в образовании структуры почвы, превращении питательных веществ, корневом питании растений и т. д.

Различная активность микробного населения почвы в летние и зимние месяцы объясняется обычно неодинаковыми температурными условиями, разной степенью влажности и аэрации почвы, наличием растительного покрова и другими факторами.

Вильямс считал, что в летние месяцы, когда верхний слой почвы высыхает и в ее промежутках находится много воздуха, в почве интенсивно протекают аэробные процессы. «Аэробный бактериальный процесс, раз он начался,— писал он,— не может быть прекращен высыханием субстрата в природной обстановке. Потребная для его течения влажность поддерживается той водой, которая образуется при аэробном бактериальном распаде органического вещества» (1951, стр. 230).

Во второй половине осени и зимой микробиологические процессы в почве, по Вильямсу, вследствие низкой температуры, приостанавливаются, и только весной, когда почва достаточно прогреется, в ней вновь начинается интенсивное развитие почвенной микрофлоры. Сначала, когда почва насыщена водой и из всех ее пор вытеснен воздух, в ней преобладает деятельность анаэробных бактерий, что способствует образованию активного перегноя и водопрочной структуры и накоплению питательных веществ. По мере подсыхания почвы анаэробные процессы уступают место аэробным.

Экспериментальных данных, подтверждающих это положение, в литературе нет, тем не менее оно широко распространено среди почвоведов, агротехников и даже микробиологов.

Соответственно указанной гипотезе Вильямса и поведению микроорганизмов на искусственных питательных средах, Мишустин считает, что в почве «деятельность микроорганизмов начинает заметно проявляться при наличии среднемесячной температуры в 5°» (1947, ст. 297). Исходя из этого положения, Мишустин намечает в воздействии микроорганизмов на почву следующие три основных периода в году:

1. Период активной деятельности почвенных микроорганизмов. Имеет место при достаточной влажности и наличии соответствующей температуры. В этот период в почве активно протекают и биологические и биохимические процессы.

2. Период депрессии микробиологических процессов. Наступает при известном дефиците влаги в почве. Характеризуется преобладанием ферментативно-химических процессов. Из-за недостатка влаги размножение микробов приостанавливается.

3. Период полного подавления микробиологических и биохимических процессов. Бывает при сильном иссушении почвы.

Это положение Мишустин распространяет на все почвенно-климатические районы. Соответственно этому (см. рисунок на стр. 299) на всей территории европейской части СССР и Закавказья, за исключением Батуми, все микробное население почвы в течение 5—9 месяцев ежегодно находится в анабиотическом состоянии и не принимает участия в подготовке питательных веществ для растений, что не соответствует многочисленным литературным данным, в том числе и самого автора (стр. 197), об адаптации почвенных микроорганизмов к температурному фактору внешней среды. На неспособность микрофлоры почвы развиваться при пониженной температуре указывают также и другие авторы (Березова, 1952).

Мичуринская биология учит, что «все органические существа находятся в тесной зависимости от окружающих условий; они как бы отлиты в формы, определенные этими условиями, так что изменение в этих условиях производит отпечаток и на организме» (Тимирязев, 1949). А раз это так, то никак нельзя согласиться с тем, что почвенные микроорганизмы, предки которых многие миллионы лет развивались в условиях низких температур, в настоящее время не могут развиваться при среднемесячной температуре ниже 5° и не оказывают положительного влияния на накопление питательных веществ в почве такое длительное время.

Что «разложение органических растительных веществ может происходить и при низкой температуре (0—5°), и при достаточной влажности вещества разложение это никак нельзя назвать слабым», экспериментально было доказано еще в 1885 г. Костычевым (1949). Способность некоторых видов грибов развиваться при температуре значительно ниже 0° установлена Чистяковым и Бочаровой (1938). По данным Еленкина и Флерова (1907) «грибы могут развиваться при сравнительно низкой температуре», а некоторые из них живут и в анаэробных условиях. Об интенсивном развитии и высокой деятельности отдельных групп макроорганизмов почвы зимой указывается в работах Гардера (1929), Кобба (Cobb, 1932), Фехера (Fecher, 1933) и др.

Об увеличении численности в почве олигонитрофильных бактерий в осенний и весенний периоды, а при наличии снежного покрова и зимой указывает Мишустина (1953). Рунов (1954) и Мишустин (1954) показали, что при невозможности обнаружить азотобактер в черноземных почвах летом он легко обнаруживается ранней весной.

Иное положение о сезонности и периодичности развития микробного населения почвы развивается в последние годы Худяковым. Автор считает открытую им периодичность развития микрофлоры почвы «крупным достижением почвенной микробиологии... непреложным фактом, который не может ставиться под сомнение, который должен приобрести важнейшее значение для теории и практики» (1954, стр. 343).

Напомним, что первое сообщение по вопросу о периодичности (ритмичности) развития микрофлоры в почве Худяковым было сделано еще в марте 1950 г. на расширенном пленуме секции удобрений ВАСХНИЛ. Уже тогда к этому вопросу участниками пленума был проявлен большой интерес, но в то же время имели место и некоторые недоумения. В ноябре 1953 г. на совещании при Всесоюзном институте сельскохозяйственной микробиологии Худяков сделал на эту тему еще один доклад, и так как в нем также не были разрешены возникшие недоразумения, считаем не лишним остановиться на их рассмотрении в соответствии с тем, как этот вопрос изложен автором в его дискуссионной статье, опубликованной в 1954 г.

На стр. 339 Худяков пишет: «По наблюдениям ряда авторов общее число микроорганизмов тем выше, чем температура ниже в пределах возможного развития. Это наблюдалось не только в лабораторных опытах, но и в природе. Известно, что весной, когда почва только начинает по-

степенно прогреваться, количество микроорганизмов возрастает, а летом, казалось бы при оптимальных условиях температуры, влажности и пищи, во много раз сокращается. Осенью с постепенным похолоданием снова отмечается увеличение количества микроорганизмов».

Поскольку приведенные Худяковым сведения о сезонном развитии микрофлоры почвы в общем не противоречат нашим данным, на них здесь мы не останавливаемся. Что же касается утверждения, что «общее число микроорганизмов тем выше, чем температура ниже в пределах возможного развития», хотя это и приписывается другим (?) авторам, то с ним никак нельзя согласиться. Нельзя согласиться и с данными Худякова, согласно которым «стоит только влажную почву поместить на две недели в холодильник при 3—4°, как количество микроорганизмов увеличивается в десятки раз по сравнению с тем количеством, какое возможно при 25°». На несостоятельность этих утверждений уже указывала Кононова (1954).

Наши исследования показали, что во влажных образцах почвы (южный чернозем) при температуре 2—4° количество микроорганизмов в течение 4—5 недель остается без особых изменений, и ни в одном из опытов не было обнаружено большого увеличения по сравнению с количеством, которое было до начала опыта. В образцах же почвы, находившихся в термостате при 26—28°, при постоянной влажности в 60% от полной влагоемкости, количество микроорганизмов уже через 10—12 дней сильно уменьшается, а через 4—6 недель численность их составляет не более 15—10% от исходного количества. Итак, в конечном количестве микроорганизмов между первыми и вторыми образцами почвы действительно получается очень большая разница, но ведь из этого никак нельзя сделать тех выводов, которые сделаны Худяковым.

Основная причина сильного уменьшения численности микроорганизмов в небольших образцах почвы (200 г), при оптимальных условиях влажности и температуры, по нашему мнению, состоит в использовании микроорганизмами основных элементов питания с одновременным накоплением в почве вредных продуктов их жизнедеятельности, аналогично тому, как это бывает при термостатировании и в других субстратах (молоко, сусло). В природных условиях такого сильного уменьшения количества микроорганизмов в почве нами не наблюдалось.

Несколько слов относительно утверждения Худякова, что «число микроорганизмов резко колеблется в течение коротких промежутков времени». Это явление он объясняет тем, что «микроорганизмы в почве способны размножаться очень быстро, но большая скорость их размножения периодически (в докладе указывалось — через 2—4 дня.— *С. С.*) прерывается, бóльшая часть их отмирает, а оставшаяся часть снова размножается, как только исчезнет причина, прекратившая размножение и побудившая гибель большей части микробных клеток» (стр. 343).

Из утверждений Худякова следует, что в почве каждые 2—4 дня погибает более 50% всего микробного населения, а следовательно, в течение года должно смениться по меньшей мере 50—60 поколений микроорганизмов. Трудно представить себе, чтобы такая частая смена поколений могла быть в почве даже при оптимальных условиях влажности и температуры.

Кроме того, если согласиться с положениями Худякова о ритмичности развития микроорганизмов в почве, то сразу же нужно поставить под сомнение все имеющиеся в литературе данные по количественному учету микроорганизмов в почве и отказаться от дальнейших работ принятыми в почвенной микробиологии методами.

Диалектический метод обязывает любое явление или процесс изучать всесторонне, во взаимном влиянии и проникновении, ибо ничто в природе не совершается обособленно. Встает вопрос: как же в таком случае объяснить утверждение Худякова, что «периодичность развития микрофлоры

почвы обусловлена... не переменой внешних условий, хотя и зависит от них, а внутренними закономерностями почвы» (разрядка наша.— *С. С.*)?

К сожалению, в литературе очень мало имеется аналитических данных о динамике распространения и деятельности микроорганизмов в почвах разных климатических зон и почти совершенно отсутствуют данные о микрофлоре почвы в зимний период.

Ниже приводим данные сезонного распространения и деятельности важнейших групп микроорганизмов в почве и ризосфере древесных насаждений и выявления ведущего фактора в развитии микрофлоры почвы.

Изучение динамики изменений микрофлоры почвы в ее деятельности проводилось в 1949—1951 гг. на Владимировской агролесомелиоративной опытной станции Николаевской области под черным паром в открытой степи и в межполосье и под лесными насаждениями разного возраста. Почва — южный чернозем. Мощность гумусового горизонта — 45—55 см, pH — около 7,2, линия вскипания в поле находится на глубине 40—50 см, а под лесом, в зависимости от возраста леса,— на глубине от 60 до 90 см. Образцы почвы для исследований брались все время на одних и тех же участках.

Согласно данным Мишустина, в почвах Николаевской области период полной подавленности микробиологических процессов из-за низкой температуры (ниже 5°) длится 5 месяцев (ноябрь — март) и из-за сильной иссушенности — 2,5—3 месяца (вторая половина июля, август и сентябрь), а всего микробиологические процессы полностью законсервированы здесь 7,5—8 месяцев. Кроме того, из-за недостатка влаги, около 1,5 месяца (вто-

Таблица 1

Распространение основных групп микроорганизмов в южном черноземе под лесом и в поле (среднее в тысячах на 1 г абсолютно сухой почвы) в зависимости от сезона года

Микроорганизмы	Глубина в см	В поле				Под лесом			
		Май—октябрь		Ноябрь—апрель		Май—октябрь		Ноябрь—апрель	
		число анализов	колич. микробов	число анализов	колич. микробов	число анализов	колич. микробов	число анализов	колич. микробов
Общее количество сапрофитных аэробных бактерий (МПА)	0—3	10	1090	10	1884	13	747	14	2424
	5—20	9	1170	10	1584	13	511	14	1252
	30—45	10	277	10	304	13	242	14	416
	75—90	10	117	10	117	13	80	14	201
Спороносные сапрофитные бактерии (МПА + СА)	0—3	9	677	10	401	13	582	13	438
	5—20	9	524	10	373	13	428	13	312
	30—45	9	93	10	105	13	113	13	72
	75—90	9	36	10	30	13	37	13	30
Анаэробные сапрофитные бактерии (МПА + карт. агар)	0—3	8	147	4	67	11	130	6	89
	5—20	8	177	4	120	11	146	6	62
	30—45	8	33	4	14	11	50	6	17
	75—90	8	7	4	2	11	12	6	3
Актиномицеты (крахмало-амм. агар)	0—3	6	910	10	5484	9	1568	13	4532
	5—20	6	767	10	2120	9	758	14	1492
	30—45	6	304	10	295	9	482	14	385
	75—90	6	77	10	43	9	169	14	82
Грибы (свекольный агар)	0—3	6	18	10	46	9	90	13	207
	5—20	6	15	10	19	9	7	14	15
	30—45	6	2	10	5	9	3	14	5
	75—90	6	0,2	10	0,1	9	1	14	0,2

рая половина мая, июнь и начало июля) микробиологические процессы подавлены (преобладают ферментативно-химические), так что на период активной деятельности микрофлоры почвы (достаточная влажность почвы и среднемесячная температура воздуха свыше 5°) приходится всего 2—2,5 месяца в году (апрель, первая половина мая и октябрь). Если же учесть, что период сильной иссушенности почвы на юге начинается не в июле, как это указано у Мишустина, а в мае и кончается не в сентябре, а в октябре, то период активной жизнедеятельности почвенной микрофлоры должен быть сокращен еще почти напоповину.

Учет количества микроорганизмов в почве проводился во все сроки года, включая и зиму. Полученные данные для краткости суммированы по полугодиям. Из данных, приведенных в табл. 1, видно, что самое большое количество бактерий, в том числе и анаэробных, актиномицетов и грибов в поле и под лесом, находится в слое 0—20 см и затем весьма резко уменьшается с глубиной.

Небезинтересно отметить, что прямой солнечный свет, воздействию которого подвергаются поверхностные частицы почвы по 15—18 часов ежедневно в течение многих месяцев подряд, и высокая температура (40—50°) не только не снижают количество банальных микроорганизмов, а даже увеличивают их численность по сравнению с нижележащим (5—20 см) слоем почвы.

В мае — октябре, несмотря на весьма благоприятные температурные условия (в среднем 17,7°), общее количество сапрофитных аэробных бактерий, актиномицетов и грибов в почве было намного меньше, чем в ноябре — апреле, хотя температура воздуха в этот период в среднем была равна всего 0°.

Бóльшая численность микроорганизмов в почве под лесом и в поле в ноябре — апреле по сравнению с маем — октябрем объясняется нами в первую очередь тем, что в летние месяцы, несмотря на благоприятные температурные условия, влажность почвы была весьма низкой — в среднем на 3—4% ниже точки увядания растений. Низкая температура в ноябре — апреле хотя и задерживает развитие микроорганизмов, но ее депрессирующее действие на микрофлору почвы намного меньше, чем недостаток влаги в почве летом.

Несколько иная картина наблюдается в отношении спорообразующих бактерий: в теплые, засушливые месяцы (май — октябрь) их во всех слоях находится больше, чем в холодные, но влажные (ноябрь — апрель). Объясняется это, вероятнее всего, высокой устойчивостью их к недостатку влаги в почве.

Количество анаэробных бактерий в почве в осенне-зимне-весенний период (сравнительно много влаги и малая аэрация) не только не больше, чем в летние месяцы (мало влаги и высокая аэрация), а даже несколько меньше. Указанная картина наблюдается во всех слоях почвы, что, кстати сказать, не подтверждает положения Вильямса о ведущей роли анаэробных бактерий в образовании деятельного перегноя и структуры почвы.

Что влага является ведущим фактором развития почвенной микрофлоры на юге, показывает также и то, что в мае — октябре, когда влажность почвы под паром была сравнительно высокой, количество микроорганизмов в полевой почве было бóльшим, чем под лесом, а в ноябре — апреле, когда влажность почвы под лесом увеличилась и другие условия (температура, водорастворимые органические вещества) стали лучшими, чем в поле, картина изменилась в обратную сторону.

Одновременно с исследованием динамики микрофлоры в этих же образцах почвы определялось содержание некоторых продуктов их жизнедеятельности. Результаты анализов, суммирование по полугодиям, приведены в табл. 2.

Из приведенных в табл. 2 данных видно, что в мае — октябре количе-

Таблица 2

Содержание NH_3 и NO_3 в южном черноземе под черным паром и под лесом (в миллиграммах на 100 г абсолютно сухой почвы) в зависимости от времени года

Продукты жизнедеятельности микроорганизмов	Глубина в см	В поле под черным паром				Под лесом			
		Май—октябрь		Ноябрь—апрель		Май—октябрь		Ноябрь—апрель	
		число анализов	мг	число анализов	мг	число анализов	мг	число анализов	мг
NH_3	0—3	7	1,77	10	0,73	11	2,16	15	1,25
	5—20	7	2,07	10	0,74	11	1,95	15	1,01
	30—45	7	1,76	10	0,57	11	1,73	15	0,67
	75—90	7	0,98	8	0,45	11	1,23	12	0,63
NO_3	0—3	9	2,36	10	1,81	14	0,31	15	1,65
	5—20	9	1,85	10	4,02	14	0,01	15	0,29
	30—45	9	1,47	10	3,35	14	Не обнар.	15	0,03
	75—90	9	0,48	8	1,99	14	Не обнар.	15	0,02

ство аммиака в почве, несмотря на сильную ее иссушенность, под паром было в среднем в 2,6, а под лесом — в 2,0 раза больше, чем в тех же почвах в ноябре — апреле. Создается впечатление, что эти данные противоречат данным динамики распространения аэробных сапрофитных микроорганизмов в этих же почвах, которые приведены в табл. 1. Но здесь нужно учесть, что аммиак в южных черноземах, как правило, не накапливается и при наличии благоприятных условий влажности он быстро окисляется до нитратов, а последние потребляются корнями растений и почвенными микроорганизмами.

Действительно, под паром и под лесом нитратов в ноябре — апреле, в связи с лучшими условиями влажности почвы в это время, найдено значительно больше, чем в мае — октябре. Объясняется это явление высокой гидрофильностью нитрифицирующих бактерий.

Меньшее количество нитратов в почве под лесом в течение всего года по сравнению с почвой под черным паром объясняется, как это было установлено нами ранее (1953), интенсивным потреблением их корнями деревьев и ризосферными микроорганизмами, особенно в осенне-зимне-весенний период.

Приведенные данные о сезонности распространения и деятельности микроорганизмов в почве проверены нами на других, более северных объектах — в Черном лесу Кировоградской области. Почва — выщелоченный чернозем на пылевато-глинистом лессе. Глубина гумусового горизонта — 70—90 см, pH — около 6,9. Грунтовые воды залегают на глубине 5—15 и более метров.

Исследования проводились три раза: в июне и октябре 1951 г. и феврале 1952 г. на одних и тех же участках. Данные микробиологических исследований приведены в табл. 3.

Из таблицы видно, что и здесь максимум микроорганизмов всех групп в почве под лесом и в поле, независимо от времени года находятся в самом поверхностном слое, а с глубиной численность их сильно снижается. В почве под лесом общее количество сапрофитных бактерий, спороносных и олигонитрофильных бактерий и актиномицетов несколько меньше, а количество анаэробных бактерий и грибов, наоборот, больше, чем в поле.

Таблица 3

Микрофлора почвы под дубовым и ясеневым лесонасаждениями и в степи под черным паром (в тысячах на 1 г абсолютно сухой почвы)

(Кировоградская область, Черный лес, 1951 — 1952 гг.)

Глубина в см	Поле под черным паром			Дубовое насаждение 70 лет			Ясеневое насаждение 70 лет		
	24.VII	30.X	15.II	24.VII	30.X	15.II	24.VII	30.X	15.II
Общее количество аэробных сапрофитных бактерий									
0—3	1821	1326	12 900	1275	878	8400	1731	648	9900
5—20	922	1071	8 400	960	547	5100	975	446	6600
30—45	136	216	1 770	550	313	870	435	314	2040
Спорообразующие бактерии									
0—3	591	615	1 099	309	492	915	627	195	786
5—20	567	531	933	372	297	870	342	198	960
30—45	282	180	57	222	144	96	246	114	99
Анаэробные бактерии									
0—3	230	200	49	240	400	128	190	300	67
5—20	320	600	36	600	300	69	370	500	45
30—45	205	30	17	110	115	17	145	60	33
Маслянокислые бактерии типа Cl. pasteurianum									
0—3	50	55	5	100	10	1	50	10	1
5—20	10	10	5	50	55	50	50	10	5
30—45	5	10	0,5	10	55	5	10	55	5
Олигонитрофильные бактерии									
0—3	770	1030	9 060	855	200	3600	435	250	5910
5—20	445	670	2 040	370	150	2820	885	90	2730
30—45	90	60	290	121	21	357	80	22	309
Актиномицеты									
0—3	5320	1160	4400	840	770	2910	1830	1600	3880
5—20	1320	880	2500	280	350	1120	540	800	1370
30—45	450	240	710	360	150	250	100	380	380
Грибы									
0—3	11	32	22	45	54	48	25	80	122
5—20	5	9	11	5	3	8	2	11	8
30—45	5	1	1	8	2	1	0,5	0,5	2

Максимальное количество микроорганизмов в почве обнаружено зимой (15 февраля), а минимум — осенью (30 октября). Общее количество сапрофитных и олигонитрофильных бактерий и актиномицетов зимой, несмотря на относительно низкую температуру, было в 3—4, а спорообразующих бактерий и грибов — в 1,5—2 раза больше, чем летом и осенью.

Увеличение микроорганизмов в почве зимой было констатировано под лесом и в поле. Это указывает, что в засушливых районах влажность почвы имеет более важное значение для развития микроорганизмов, чем низкая (0° и выше) температура.

Одновременно с увеличением количества микроорганизмов в почве зимой повышается содержание и легкоподвижных элементов пищи (табл. 4). Особенно обращает на себя внимание высокое содержание в почве зимой водорастворимых органических веществ, являющихся ос-

новным энергетическим и питательным материалом для развития гетеротрофных микроорганизмов. Основным источником водорастворимых органических веществ в почве под лесом, как это было показано нами ранее (Самцевич и Катеринич, 1953а), являются корневые выделения, максимум которых у деревьев бывает на юге после опадения листьев. Увеличивается количество водорастворимых органических веществ в почве зимой и под черным паром, но в значительно меньшей степени, чем под лесом.

Количество аммиака в феврале в почве под лесом было приблизительно в 2, а нитратов — в 4—5 раз больше, чем в октябре, а если учесть, что в это время происходит довольно интенсивное потребление нитратов корнями древесных растений, то разница будет еще большей. Аммиака и нитратов в феврале по сравнению с октябрем было больше и под черным паром, но разница здесь по сезонам намного меньше, чем под лесом.

Таблица 4

Количество легкоподвижных элементов питания в почве под дубовым и ясеневым лесонасаждением и в поле под черным паром (в миллиграммах на 100 г абсолютно сухой почвы)

(Кировоградская область, Черный лес, 1951 — 1952 гг.)

Глубина в см	Поле под черным паром		Дубовое насаждение		Ясеневое насаждение	
	30.X	15.II	30.X	15.II	30.X	15.II
	Влажность почвы в %					
0—3	14,23	34,89	14,04	24,67	14,87	37,48
5—20	16,72	20,99	12,19	17,88	11,84	23,95
30—45	14,98	22,26	10,74	12,03	10,33	22,70
	Водорастворимые органические вещества (O_2)					
0—3	18,00	33,62	105,97	132,61	74,17	99,09
5—20	15,25	20,82	35,28	41,57	39,52	48,24
30—45	10,16	21,64	11,71	28,09	24,38	31,90
	Аммиак					
0—3	0,92	1,24	0,97	1,71	0,93	2,06
5—20	0,90	1,27	0,93	1,38	0,50	1,48
30—45	0,79	1,29	0,84	1,32	0,78	1,46
	Нитраты					
0—3	4,20	0	0,44	1,50	0,55	2,85
5—20	3,93	4,61	0	0	0	0,55
30—45	0,66	8,59	0	0	0	0

Большое влияние на численность микроорганизмов в почве, помимо влажности и температуры, оказывают, как известно, корневые выделения растений. У однолетних растений максимум микроорганизмов в ризосфере наблюдается обычно в период цветения, что соответствует максимальному оттоку у них корневых выделений в почву. У древесных же растений, как это было установлено нами (Самцевич и др., 1952) в степной и лесостепной зоне Украины, эти процессы наиболее интенсивно протекают после опада листьев. Причиной этому может быть как более высокая влажность почвы, так и разделение функций у деревьев между надземной и подземной частями во времени.

Чтобы проследить, как происходит развитие микроорганизмов в ризосфере деревьев в зависимости от сезона года, мы поставили специальный вегетационный опыт с сеянцами дуба на южном черноземе из-под

70-летнего дубового насаждения. Влажность почвы все время поддерживалась на уровне 60% от полной ее влагоемкости. Посев желудей произведен 15 мая. Исследования микрофлоры ризосферы производились 14 июля (лето первое, период вегетации), 14 сентября (осень, начало листопада), 30 декабря (зима, период «покоя») и на второй год — 18 июня (лето второе, период вегетации). Зимой сосуды с дубками хранились в помещении при температуре от + 8° до — 5°. Результаты микробиологических исследований приведены в табл. 5.

Таблица 5

Сезонные изменения количества микроорганизмов в ризосфере и в поверхностных тканях корневых окончаний дуба (в тысячах в 1 г)

Сезоны года	Общее колич. сапрофитных бактерий	Денитрифицирующие бактерии	Олигонитрофильные бактерии	Cl. pasteurianum	Актиномицеты	Грибы
В 1 г ризосферы						
Лето 1951 г.	750	68,6	309	868	7 778	—
Осень	637	17,4	3 047	87	1 656	235
Зима	752	15,3	111 877	15	10 400	65
Лето 1952 г.	2032	10,3	59 020	16	7 160	49
В поверхностных тканях 1 г сырых отмытых корешков первичного строения						
Лето 1951 г.	51	14,3	227	143	157	—
Осень	156	10,5	2 040	11	766	38
Зима	147	0,9	52 000	10	2 080	173
Лето 1952 г.	17	0,7	36 827	37	887	0

Из приведенных в таблице данных видно, что и в ризосфере и в поверхностных тканях тщательно отмытых корневых окончаний дуба общее количество микроорганизмов к осени значительно увеличивается, а больше всего их найдено в феврале. На второй год летом количество микроорганизмов в поверхностных тканях корней, вследствие уменьшения нисходящего и увеличения восходящего тока по сравнению с зимой, не только не увеличилось, а даже уменьшилось. Исключение составляют денитрифицирующие бактерии и Cl. pasteurianum. Влияние влажности, температуры и органического вещества на жизнедеятельность почвенной микрофлоры было изучено нами и в лабораторных опытах. Показателем жизнедеятельности микроорганизмов в почве нами взята интенсивность их дыхания — CO_2. Данные исследований приведены в табл. 6.

Таблица 6

Интенсивность дыхания почвы (южный чернозем из-под черного пара) в зависимости от ее влажности, температуры и наличия легкорастворимых органических веществ

(Среднее из трех повторностей)

Условия проведения опытов			Выделено 100 г абсолютно сухой почвы за 72 часа CO_2 в мг
Влажность почвы (в % от полной влагоемкости)	Температура в °	Внесено сахарозы в г на 100 г почвы	
60	— 2	0	0
60	+ 2	0	7,0
60	2	0,1	16,0
60	25	0	37,0
60	25	0,1	52,0
25	2	0	4,0
25	25	0	11,0

Из табл. 6 видно, что каждый фактор: влажность, температура и органическое ве-

щество (сахароза) — оказывает весьма большое влияние на жизнедеятельность почвенной микрофлоры. При температуре —2°, несмотря на оптимальную влажность, выделения углекислоты обнаружено не было. С увеличением влажности и температуры интенсивность дыхания повышается. Наиболее интенсивно выделяется CO_2 при влажности почвы 60% от полной влагоемкости и температуре 25° и весьма слабо при малой влажности и низкой температуре. При оптимальной влажности почвы (60% от полной влагоемкости) и низкой температуре (2°), с внесением 0,1 г сахарозы на 100 г абсолютно сухой почвы, что соответствует состоянию последней в осенне-зимне-весенние месяцы, CO_2 было выделено 16,0 мг, а при влажности почвы 25% от полной влагоемкости и температуре 25°, что соответствует состоянию почвы в летние месяцы,— всего лишь 11,0 мг, т. е. на 45% меньше.

Микробиологические процессы в почве на юге протекают зимой не менее интенсивно, чем летом. Об этом говорят также многочисленные наблюдения за разложением растительных и животных остатков в почве, данные о росте корней у многолетних растений и выращивании растений при низких температурах.

В степи и южных районах лесостепи нередко можно наблюдать, что при достаточной влажности почвы растительные остатки (стерня, листья, корни), запаханные в почву поздней осенью (октябрь — ноябрь), несмотря на низкую температуру, полностью разлагаются уже к концу зимы (начало марта), в то время как при недостатке влаги они не разлагаются ни зимой, ни летом. Весьма положительно влияет на развитие микробиологических процессов в почве южных областей отсутствие сильных морозов, частые оттепели, наличие снежного покрова, а в лесу, кроме того, лесная подстилка.

Интенсивный рост корней у древесных растений в осенне-зимне-весенние месяцы при температуре 0° и близких к ней наблюдали Самцевич (1951), Смирнов (1954), Колесников (1954) и др. Несмотря на низкую температуру почвы и обезлиственность деревьев, одновременно с ростом корней происходит усиленный экзомос в донерастворимых органических веществ (Самцевич, 1953а) и ассимиляция аммиака и нитратов с превращением их в азотистые органические соединения (Колесников, 1954; Сабинин, 1949; Смирнов, 1954).

Весьма ярким показателем активной деятельности микрофлоры почвы при низких положительных температурах могут быть опыты Дадыкина (1952), который вырастил три последовательных поколения ячменя при постоянной температуре почвы в зоне корней не выше +2°. Корни растений, по данным этого исследователя, способны поглощать воду из мерзлой почвы при температуре ее до —1, —15°.

Исходя из приведенных данных, можно полагать, что жизнедеятельность почвенной микрофлоры не прекращается в осенне-зимне-весенние месяцы не только в степи и лесостепи, но даже и в лесной зоне, особенно при наличии снежного покрова и продолжительных оттепелей.

Выводы

1. Существующее в литературе и повседневном обиходе представление, что поздней осенью, зимой и ранней весной численность микробного населения в почве из-за низкой температуры сильно уменьшается, а деятельность его приостанавливается, следует считать необоснованным.

2. Если в почве достаточно влаги и температура выше 0°, численность микроорганизмов в осенне-зимне-весенние месяцы не уменьшается и деятельность их не прекращается.

3. В черноземных почвах южных областей зимой, поздней осенью и ранней весной при достаточной влажности и температуре выше 0° количество микроорганизмов и их деятельность протекает более интенсивно,

чем это бывает летом при оптимальной температуре, но недостаточной влажности.

4. Основным фактором, лимитирующим распространение и деятельность микрофлоры почвы на юге, является влага, а на севере — температура.

5. Весьма положительное влияние на количество и деятельность микроорганизмов в почве под лесом оказывает зимой на юге интенсивный отток у деревьев корневых выделений в почву, максимум которых в почве под лесом на юге бывает после опада листьев у деревьев.

Получено 12. III. 1955 г.

ЛИТЕРАТУРА

Березова Е. Ф. Роль микроорганизмов в сельском хозяйстве. Сельхозгиз, 1952.
Вильямс В. Р. Собр. соч., т. VI, ГИСХЛ, 1951.
Гардер Л. А. Исследования по биодинамике перегнойно-карбонатных почв. Тр. Всес. н.-иссл. ин-та с.-х. микробиологии ВАСХНИЛ, IV, вып. 1, 125, 1929.
Дадыкин В. П. Особенности поведения растений на холодных почвах. Изд-во АН СССР, 1952.
Еленкин А. А. и Флеров А. Ф. Ядовитые и съедобные грибы в России. Болезни растений, I, 3—4, 1907.
Колесников В. А. Значение корневой системы плодовых деревьев в повышении урожайности садов Московской области. Рефераты докладов ТСХА, вып. XIX, 1954.
Кононова М. М. Некоторые дискуссионные вопросы в области почвенной микробиологии. Микробиология, XXIII, вып. 4, 1954.
Костычев П. А. Почвы черноземной области России. Сельхозгиз, стр. 28, 1949.
Мишустин Е. Н. Эколого-географическая изменчивость почвенных бактерий. Изд-во АН СССР, 1947.
Мишустин Е. Н. Эколого-географическое распространение азотобактера в почвах СССР. Тр. Ин-та микробиологии АН СССР, III, 1954.
Мишустина И. Е. Олигонитрофильные микроорганизмы почвы. Автореф. канд. диссертации, АН СССР, 1953.
Рунов Е. В. Микрофлора черноземов под лесными насаждениями в Деркульской степи. Тр. Ин-та леса АН СССР, XV, 1954.
Сабинин Д. А. О значении корневой системы в жизнедеятельности растений. Изд-во АН СССР, 1949.
Самцевич С. А. Влияние почвенных и климатических условий на рост корней древесных растений (яблони). Тр. Ин-та лесоводства АН УССР, II, 1951.
Самцевич С. А. и Катеринич Т. Д. Причины отсутствия или малого количества нитратов в почве под дубовыми насаждениями в степи. Тр Ин-та лесоводства АН УССР, V, 1953.
Самцевич С. А. и Катеринич Т. Д. Изменения органического вещества в южном черноземе под влиянием дубовых насаждений. Почвоведение, 4, 1953а.
Самцевич С. А., Корецкая З. М. и Соснягова Г. А. Микрофлора ризосферы дуба. Тр. Ин-та лесоводства АН УССР, III, 1952.
Смирнов Н. М. Биологический метод ликвидации периодичности плодоношения яблони. Сад и огород, 11, 1954.
Тимирязев К. А. Чарлз Дарвин и его учение. Избр. соч., т. IV, Сельхозгиз, 1949, стр. 131.
Чистяков Ф. М. и Бочарова З. З. Влияние низких температур на микроорганизмы. Микробиология, VII, вып. 4, 1938.
Худяков Я. П. Современное состояние и задачи микробиологии почвы. Микробиология, XXIII, вып. 3, 1954.
Cobb J. A quantitative study of the microorganic population of a hemlock and a deciduous forest soil. Soil Sci., **33**, 5, 1932.
Fecher D. Untersuchengen über die Mikrobiologie des Waldbodens. Berlin, 1933.

ОБЗОРЫ

НОВЫЕ ДАННЫЕ ОБ АММИАКЕ КАК ПЕРВИЧНОМ ПРОДУКТЕ ФИКСАЦИИ МОЛЕКУЛЯРНОГО АЗОТА АЗОТОБАКТЕРОМ

М. В. Федоров

В предыдущем обзоре современной литературы по химизму фиксации молекулярного азота бактериями (Федоров, 1953) мы уже указывали, что ряд исследователей считают аммиак первичным продуктом азотфиксации. Сторонниками аммиачной теории азотфиксации являются Костычев (1926, 1931), Виноградский (1932), Гапон (1947), Вильсон и Буррис (Wilson a. Burris, 1947) и др.

Однако критический анализ фактического материала, приводимого в обоснование этой точки зрения, показывает, что пока она еще не может считаться достаточно обоснованной. Несмотря на частое обнаружение аммиака в культурах отдельных азотфиксирующих микроорганизмов, до сих пор еще не удалось получить твердых доказательств, что он является первичным продуктом азотфиксации (Roberg, 1935; Федоров, 1948, 1949, 1952). Так как в самое последнее время были опубликованы новые работы, в которых опять фигурирует аммиак в качестве первичного продукта фиксации молекулярного азота азотобактером (Работнова с сотрудниками, 1949, 1953; Newton, Wilson, Burris, 1953), то возникла необходимость вновь вернуться к этому вопросу и детально рассмотреть фактический материал, приводимый в этих работах. Это рассмотрение и составляет предмет нижеследующего обзора.

Для того чтобы напомнить существо данного вопроса, необходимо указать основные положения, на которых основывается аммиачная теория фиксации атмосферного азота азотобактером, и привести важнейшие факты, противоречащие этой гипотезе.

Костычев (1926) и Виноградский (1932) свои теории основывают на том, что в клетках азотобактера молекулярный азот взаимодействует с активированным водородом при участии особого фермента — нитрогеназы, который, по их предположениям, активирует молекулярный азот. При этом взаимодействии и образуется аммиак. Однако такому течению процесса противоречат следующие факты, обойти которые не представляется возможным. Во-первых, молекулярный водород подавляет фиксацию атмосферного азота как клубеньковыми бактериями, так и азотобактером, а между тем он должен был бы стимулировать ее, так как атомы азота (если бы они получались под влиянием фермента нитрогеназы) легко реагировали бы с молекулами водорода с образованием аммиака.

Если такая реакция с молекулярным водородом не происходит, то только потому, что молекулы азота, видимо, не подвергаются активации до атомарного состояния. А раз нет их активации, то, очевидно, нет и фермента, вызывающего эту активацию. В силу этого и реакция между активным водородом, мобилизованным дегидразами из органического вещества, и молекулярным азотом также становится невозможной из-за недостаточной активности даже атомарного водорода, а между тем при активации получается водород, связанный с дегидразами связью, равно-

ценной 84 ккал на моль. В силу этого и вся схема фиксации азота с участием нитрогеназы становится нереальной и не может служить базой для объяснения химизма этого процесса.

Во-вторых, первичное образование аммиака до настоящего времени не доказано (Миненко, 1928; Roberg, 1935; Федоров, 1952). Если он и обнаруживается в культурах азотобактера, то только после исчерпания энергетического материала, т. е. вторичным путем. Так, например, в опытах Роберга за 30—40 дней эксперимента более 10% общего азота выделялось в форме аммиака, но он возникал только после исчерпания энергетического материала, что указывает на его вторичное происхождение. Аналогичные данные сообщались и в наших работах (Федоров, 1952).

Второй вариант аммиачной теории был предложен Вильсоном и Буррисом (Wilson a. Burris). В основу этой теории был положен факт накопления «меченого» азота в одних и тех же фракциях азотистых веществ клеток азотобактера, независимо от того, дается ли «меченый» азот в форме молекулярного азота или в форме аммиака (в том и другом случае часть азота давалась в форме N^{15}). Основная масса «меченого» азота была обнаружена во фракции глютаминовой кислоты. Этот факт и был тогда принят этими авторами за подтверждение положения, что процесс азотфиксации идет через аммиак. Однако сделать такой вывод из вышеописанного факта, конечно, нельзя. Однотипное распределение изотопного азота при питании азотобактера молекулярным азотом или же аммиаком, обогащенным N^{15}, указывает только на однотипный путь дальнейших превращений азота при синтезе белковых веществ в протоплазме клетки, а не на первичное образование аммиака при азотфиксации. Специфическое же накопление «меченого» азота во фракции глютаминовой кислоты было объяснено нами тем, что активная группа азотфиксирующего фермента может представлять собой соединение, близкое к глютаминовой кислоте (Федоров, 1949; 1952).

Если бы процесс азотфиксации осуществлялся по схеме Вильсона и Бурриса, то на 1 г окисленной глюкозы могло бы фиксироваться только около 8 мг атмосферного азота, а между тем в условиях эксперимента можно получить продуктивность азотфиксации до 15 мг и более на 1 г использованной глюкозы. На основании тщательного разбора всего фактического материала по первичному образованию аммиака нами и был сделан общий вывод, что первичное происхождение его не доказано (Федоров, 1952). В связи с этим возникает естественный вопрос: остается ли это положение в силе и в настоящее время, или же за эти три года накопились новые данные, заставляющие пересмотреть эту точку зрения?

На этот вопрос мы должны ответить отрицательно, хотя за это время и были опубликованы некоторые работы, стремящиеся доказать первичное образование аммиака в процессах азотфиксации. Это обстоятельство и заставляет нас детальнее рассмотреть экспериментальный материал, приведенный в этих работах, особенно в работе Ньютона, Вильсона и Бурриса (Newton, Wilson a. Burris, 1953). Такой разбор особенно необходим потому, что указанная работа привела некоторых исследователей (Работнова, 1954) к заключению, что теперь получены уже окончательные доказательства в пользу первичного образования аммиака. Реферируя указанную работу в журнале «Микробиология», Работнова формулировала свое мнение следующим образом: «Уже в предыдущих работах по изучению механизма азотфиксации у азотобактера с помощью меченого азота американские исследователи пришли к заключению, что наиболее вероятным промежуточным продуктом является аммиак. В настоящей работе авторам удалось непосредственно обнаружить аммиак, как первый стабильный продукт азотфиксации». Формулировка настолько определенна, что не остается сомнений в том, что американским исследователям удалось получить окончательное доказательство первичного образования аммиака в процессах азотфиксации. Однако так ли это?

Ответ на этот вопрос может дать только детальное рассмотрение экспериментального материала, приведенного в указанной работе. Она была выполнена Ньютоном, Вильсоном и Буррисом с густыми суспензиями клеток азотобактера, предварительно выращенных на молекулярном азоте. В большинстве опытов на 100 мл среды использовалось столько клеток, что общий азот их составлял 100—150 мг. Если принять, что общее содержание азота в клетках Az. vinelandii и Az. agile отвечает примерно 5% их сухого веса, то в рассматриваемых опытах авторы брали, видимо, около 30 г живого веса клеток азотобактера на 100 мл среды (в данном расчете сухой вес клеток принят равным 10% от живого веса). Возраст клеток соответствует 15—20 часам. Эта масса клеток помещалась в среду, в которую аммонийный азот «меченый» (N^{15}) добавлялся в количестве 100—150 γ на 1 мл или 10 000—15 000 γ на 100 мл. Аммиачный азот давался в форме уксуснокислого аммония. Вместе с ним в среду вносилось примерно 30—40 мг уксусной кислоты, которая и была, видимо, единственным энергетическим материалом для предполагаемой фиксации атмосферного азота азотобактером. На 1 г клеток приходилось около 1—2 мг уксусной кислоты. Если даже принять, что вся уксусная кислота за время опыта (30—60 минут) будет полностью потреблена и эффективно использована для азотфиксации, то и в этом случае возможное количество фиксируемого азота должно отвечать 0,24 мг. Но так как 30—40 мг уксусной кислоты приходились на 25—30 г живых клеток азотобактера, то они должны были затрачиваться в первую очередь на поддержание жизнедеятельности микроорганизма и едва ли могли служить основой для увеличения количества клеточного вещества, на синтез которого обычно и идет ассимилируемый атмосферный азот. При таких условиях постановки опыта азотфиксация не имела биологического значения для азотобактера и могла осуществляться только ферментным комплексом, без тесной связи с синтезом нового клеточного вещества, т. е. без всякой физиологической потребности микроорганизма в связанном азоте. А между тем известно, что азотфиксирующие ферменты очень тесно связаны со структурой протоплазмы (Федоров, 1948) и выполняют свои функции в системе ферментов, ответственных за синтез нового клеточного вещества. Это обстоятельство говорит против возможности азотфиксации в условиях рассматриваемых опытов.

Далее следует указать, что в большинстве опытов газовая смесь над питательной средой состояла из молекулярного азота (парциальное давление 0,1 атмосферы), разбавленного 30 атом-процентами N^{15} и молекулярного кислорода, парциальное давление которого отвечало 0,9 атмосферы. При такой концентрации кислорода в газовой смеси, как это было в свое время показано Берком (Burk, 1934) и нами (Федоров, 1948), процесс азотфиксации или очень сильно тормозится, или же совсем исключается, так как вступает в силу конкурентное торможение азотфиксации кислородом. Это торможение связано с тем, что водород, мобилизованный дегидразами из окисляемого субстрата, при высоком парциальном давлении кислорода отнимается от них кислородом и идет на образование перекиси водорода. Поэтому при тех концентрациях кислорода, которые были использованы авторами в рассматриваемых экспериментах, возможность азотфиксации также следует считать исключенной.

Наконец, в суспензию с клетками азотобактера вносился уксуснокислый аммоний. В тех случаях, когда он содержал некоторое количество N^{15}, в газовой смеси давался немеченый молекулярный азот. Если же в среду вносился ацетат аммония с обыкновенным азотом (N^{14}), то к газовой смеси добавлялся «меченый» молекулярный азот (N^{15}). Несмотря на указанное различие, в том и другом случае среда содержала значительное количество аммиачного азота, в присутствии которого, как это ранее указывали и сами авторы рассматриваемой здесь работы, азотфиксация прекращается. Так, например, Вильсон и Буррис (Wilson a. Burris, 1947)

сообщали, что при концентрации аммиака в среде, отвечающей 0,01 моля, процесс азотфиксации подавляется на 100%. В рассматриваемых же опытах усвоение аммиачного азота и молекулярного азота почему-то шло параллельно и аммиак даже в больших дозах не подавлял азотфиксацию полностью.

В чем же здесь дело? Почему один и тот же организм ведет себя в разных экпериментах столь различно?

На этот вопрос авторы дают следующий ответ: в первом случае использовались активно растущие клетки азотобактера, а во втором — покоящиеся клетки. Однако этим соображением едва ли можно объяснить наблюдаемые различия. Если клетки в условиях данного опыта не растут, то спрашивается, на какие же жизненно важные процессы они используют усваиваемый азот? Ответа на этот вопрос авторы, к сожалению, не дают. Если, далее, микроорганизм не растет и количество клеточного вещества в нем не увеличивается, то и потребность в азоте как будто становится излишней. Ни аммиачный азот, ни, тем более, молекулярный азот, который к тому же еще должен быть предварительно фиксирован в присутствии аммиака, как будто не нужны. Это обстоятельство опять говорит против возможности азотфиксации в указанных условиях эксперимента. Ссылка же на то, что в клеточных суспензиях концентрация аммиака, подавляющая азотфиксацию, должна быть пропорциональной количеству присутствующих клеток, явно недостаточна, так как аммиак в растущих культурах подавляет фиксацию не по типу конкурентных ингибиторов, а в силу прямого участия в процессах синтеза клеточного вещества. Если бы угнетающее действие аммиака было связано с обычным конкурентным торможением, то он не должен был бы потребляться микроорганизмом для синтеза клеточного вещества, как это имеет место, например, при торможении процесса молекулярным водородом или молекулярным кислородом. В данном же случае аммиак потребляется организмом и необратимо исчезает из среды. Эти соображения также говорят против возможности азотфиксации в данных условиях эксперимента. В этих условиях аммиак должен был получаться за счет окисления клеточного вещества и выделяться в среду, а не поглощаться из нее клетками, не имеющими условий для синтеза нового клеточного вещества.

Техника проведения опытов была основана на методе так называемого изотопного разбавления. К культуре добавляется «меченый» азот (N^{15}) или в форме NH_4^+, или в форме N_2 и время от времени производятся измерения концентрации изотопа N^{15} во всей культуре и в отдельных ее фракциях. При добавлении «меченого» азота в форме ацетата аммония анализы всей культуры на N^{15} служили мерой азотфиксации, а анализы клеток на N^{15} позволяли определить потребление аммонийного азота. Общий азот определялся сжиганием по методу Кьельдаля, а получающийся при этом аммиак гипобромитным методом окислялся до молекулярного азота и последний исследовался в масс-спектрографе для определения избытка атом-процентов N^{15}. Клетки определялись центрифугированием, а аммиачный азот из центрифугата отгонялся или при обычном давлении, или же в вакууме. При исследовании клеточного содержимого клетки разрушались при помощи ультразвука и аминокислоты разделялись методом бумажной хроматографии.

В качестве основных результатов этих исследований приводятся следующие положения: 1) при усвоении «меченого» молекулярного азота и наличия в жидкости немеченого аммиака в составе аммиака среды в небольших количествах появляется «меченый» азот; 2) при наличии в среде аммиака с «меченым» азотом и немеченого молекулярного азота наблюдается «разбавление» меченого аммиака немеченым аммиаком, который, по мнению авторов, получается за счет усвоения молекулярного азота и дальнейшего выделения в среду. Так как в составе тела азотобактера

«меченый» азот обнаруживается уже после того, как он появляется в среде в форме аммиака, то авторы делают из этого заключение, что аммиак должен образоваться не за счет дезаминирования глютаминовой кислоты, а первичным путем, в качестве основного продукта азотфиксации. Эти главные выводы авторы обосновывают цифровыми данными, приводимыми нами в табл. 1, 2 и 3.

В опытах с Az. vinelandii контрольной колбы, с исключенной азотфиксацией, не было, а в опытах с Az. agile была одна колба, которая содержала газовую смесь, состоящую из водорода и кислорода (без азота). В ней содержание атом-процентов N^{15} мало изменялось. В начале опыта в составе NH_4^+ среды оно было равно 27,94, а в конце опыта — 26,43.

Таблица 1

Изменение в содержании атом-процентов N^{15} в среде, содержащей густую суспензию клеток азотобактера (по Newton, Wilson a. Burris)

Испытываемый микроорганизм и условия опыта	Время опыта в часах	Избыток N^{15} в атом-процентах		
		во всей культуре	в клетках	в NH_4^+ среды
1. Az. vinelandii (в среду добавлено 40 γ $N/N^{15}H_4COOCH_3$ на 1 мл)	0	5,97	0,05	25,14
	1	5,98	0,92	25,53
	2	5,88	2,28	20,64
	3	5,71	3,99	12,34
2. Az. agile (в среду добавлено 30 γ $N/N^{15}H_4COOCH_3$ на 1 мл)	0	6,28	0,10	27,94
	2	5,67	5,06	9,78

Из приведенных данных следует, что во время опыта наблюдается разбавление N^{15} в аммонийном азоте среды. Причиной такого результата авторы считают возможность разбавления «меченого» аммиачного азота немеченным аммиаком, образующимся за счет фиксации азота атмосферы азотобактером. Но так как при данных условиях постановки опыта, как мы уже указывали выше, возможность азотфиксации была практически исключенной, то причину этого результата следует искать в чем-то другом. Это другое, видимо, связано с частичным вступлением «меченого» аммиачного азота в состав клеточного вещества и последующим выделением в среду аммиака из состава клеточного вещества. Последний процесс был связан не с азотфиксацией, которая при недостатке источников углерода в среде (около 40 мг ацетата на 25—30 г живого веса клеток) не могла происходить, а с окислением азотобактером в актах дыхания своего клеточного вещества. При этом окислении часть азота оставалась излишней и, видимо, выделялась в среду в форме аммиака. Исходя из указанных соображений, следует предполагать, что аммиак в этих опытах возникал за счет дезаминирования аминокислот, а не за счет фиксации атмосферного азота. Правильность этого предположения подтверждается данными, приведенными в табл. 1. За первые два часа опыта выделение аммиака в среду было ничтожным (атом-процент N^{15} в среде изменился только с 25,14 до 20,64) в силу того, что в среде были еще некоторые количества ацетата, а за третий час, когда они оказались исчерпанными, началось обильное выделение аммиака, очевидно из состава клеточного вещества азотобактера, и в силу этого атом-процент N^{15} в аммиаке среды сразу упал до 12,34. В первый же час опыта аммиак в среду совсем не выделялся. Если бы он возникал за счет азотфиксации, то результат опыта должен был бы быть как раз обратным. Поскольку в первые часы опыта в среде был еще энергетический материал, то азотфиксация должна была бы совершаться более интенсивно и давать более интенсивную продукцию аммиака, а в последующие часы, когда энергетический материал был уже потреблен, азотфиксация исключалась бы и выделение аммиака с немеченым азотом в среду должно было прекратиться. Поэтому данные авторов говорят в пользу предположения, что разбавление «меченого» азота аммиака в среде немеченым аммиачным азотом происходило не за счет азотфиксации, а за счет дезаминирования окисляемого

клеточного вещества азотобактера. Малое же разбавление аммиака в опыте с газовой смесью из водорода и кислорода указывает на то, что в этих условиях, видимо, и окислительные процессы в протоплазме клеток азотобактера были сильно заторможены. Вследствие этого аммиак не мог получаться в тех же количествах, которые наблюдались в варианте опыта без водорода. Использовать этот вариант в качестве контрольного можно было бы только в том случае, если бы в клетках были заторможены процессы азотфиксации, а окислительные процессы могли бы совершаться с нормальной интенсивностью. Только при этом условии можно было бы говорить о разбавлении изотопного азота аммиака среды аммиаком с немеченым азотом, возникающим в процессе азотфиксации. Однако такого контрольного опыта авторы не поставили, а в большинстве случаев и вообще не поставили никаких контрольных опытов. При такой системе ведения эксперимента можно получить самые неожиданные результаты и сделать выводы, не вытекающие из эксперимента с полной необходимостью.

Во второй серии опытов суспензии азотобактера снабжались «меченым» молекулярным азотом, а в среду добавлялся уксусный аммоний с немеченым азотом. В этом случае авторы наблюдали выделение в среду аммиака с «меченым» азотом, который рассматривается ими так же, как первичный продукт азотфиксации, выделяющийся в среду. Результаты этого опыта приводятся в табл. 2.

Таблица 2

Обогащение экзогенного аммония „меченым" азотом (N^{15}) в культурах Az. vinelandii (по Newton, Wilson a. Burris)

№ п/п.	Условия опыта			Продолжительность опыта в минутах	Избыток N^{15} в атомпроцентах		
	Азот клеток в мг	$N—NH_4^+$ в среде	Газовая смесь в атмосферах		в клетках	в свободных аминокислотах	в NH_4^+ среды
1	20	40 γ × 100	0,15 N_2 + 0,85 O_2	60	0,17	—	1,5
2	150	100 γ × 100	0,15 N_2 + 0,85 O_2	45	0,15	—	0,95
3	150	150 γ × 100	0,1 N_2 + 0,9 O_2	30	0,01	0,01	0,13
				60	0,01	0,03	0,22
4	100	90 γ × 100	0,3 N_2 + 0,7 O_2	45	0,03	0,07 (глют. к-та)	1,81

В газовой смеси всех вариантов опыта содержался избыток в 32 атомпроцента «меченого» молекулярного азота, а аммонийная соль уксусной кислоты, добавлявшаяся в среду, не содержала «меченого» азота. Итоги опыта показывают, что в клетках и в аммиаке среды обнаруживается некоторое количество «меченого» азота. Наблюдающееся обогащение аммония среды «меченым» аммиачным азотом авторы объясняют тем, что часть аммиака образуется за счет фиксации «меченого» молекулярного азота. Этот факт они принимают за важное доказательство правильности развиваемого ими положения, что фиксация атмосферного азота происходит через стадию аммиака. Поскольку, далее, в составе обнаруживаемой в среде глютаминовой кислоты избыток N^{15} оказался меньше, чем в составе аммиака среды, то авторы делают заключение, что аммиак возникает не за счет дезаминирования глютаминовой кислоты, а первичным путем. Но так ли все это?

Для выяснения фактической стороны дела рассмотрим цифровой материал, представленный в табл. 2. В варианте этого опыта, идущем под № 3, экспозиция клеток связана с двумя сроками: 30 и 60 минутами. В ос-

тальном все условия эксперимента оставались одинаковыми. Однако достаточно было изменить срок экспозиции, чтобы получился совершенно различный результат. Накопление N^{15} в составе клеток азотобактера в обоих случаях оказалось совершенно одинаковым (избыток N^{15} составляет 0,01 атом-процента), а в составе аммиака среды увеличение срока экспозиции в два раза привело и к в двое большему накоплению «меченого» азота в форме аммиака (соответственно 0,13 и 0,22 атом-процента). По непонятной и удивительной причине при одинаковом количестве клеток (150 мг азота клеток) концентрация «меченого» азота в их составе при удлинении срока экспозиции не изменялась, а в составе свободных аминокислот и аммиака среды — концентрация «меченого» азота сильно возросла. В данном случае клетки азотобактера вели свою физиологическую деятельность столь специфично, что объяснить ее не представляется возможным. Вся их жизнедеятельность свелась только к тому, чтобы продуцировать аммиак за счет предполагаемой фиксации «меченого» атмосферного азота, которая при указанной газовой смеси и указанном содержании аммиака в среде едва ли вообще была возможной.

Еще бóльшая продукция аммиака была получена в варианте 4, где концентрация аммиака в среде на единицу веса клеток была примерно такой же, как и в опыте 3, а выделение аммиака с «меченым» азотом в среду оказалось гораздо бóльшим (0,07 атом-процента избытка N^{15} в глютаминовой кислоте и 1,81 атом-процента в NH_4^+ среды). Повышение концентрации молекулярного азота в газовой смеси в три раза ($pN_2 = 0{,}3$ атмосферы) привело к увеличению и накоплению «меченого» азота как в клетках, так и в составе аммиака среды. Эти очевидные несоответствия в результатах разбираемого опыта указывают, по нашему мнению, на то, что в данных условиях эксперимента происходят побочные процессы обмена между «меченым» и немеченым азотом, не связанные с фиксацией атмосферного азота. Тяжелые изотопы, как известно, более активно участвуют в химических превращениях, и между ними и более легкими изотопами возможен частичный взаимный обмен. Для азота такой обмен может идти в следующем направлении:

$$-CN^{14}- + N^{15}H_4 \rightleftarrows -CN^{15}- + N^{14}H_4$$

Подобного типа обмены атомами азота, возможно, и в данном случае имели значение и приводили к тем результатам, которые получили авторы. Это предположение находит дополнительное подтверждение в следующем опыте тех же авторов, результаты которого приводятся в табл. 3.

В варианте 5, в котором аммиачный азот в среду не добавлялся, имело место некоторое обогащение клеток азотобактера «меченым» азотом

Таблица 3

Влияние концентрации аммиака в среде на внедрение N^{15} в клетки и на появление N^{15} в составе аммиака среды (опыт с Az. vinelandii; по Newton, Wilson a. Burris)

Условия опыта			Потреблено $N{-}NH_4^+$ за время опыта в мг	Избыток N^{15} в атом-процентах	
Азот бактериальных клеток в мг	Добавление в среду аммиачного азота в мг	Газовая смесь в атмосферах		в клетках	в аммонийном азоте среды
158,5	20	0,1 N_2 + 0,9 O_2	10,0	0,0	0,15
158,5	20	0,1 N_2 + 0,9 O_2	5,0	0,01	0,33
158,5	10	0,1 N_2 + 0,9 O_2	4,25	0,03	0,97
158,5	5	0,1 N_2 + 0,9 O_2	3,75	0,09	1,68
15	0	0,1 N_2 + 0,9 O_2	0,0	0,18	0,04

(избыток N^{15} равен 0,18 атом-процента), но «меченый» азот в составе аммиака среды практически не появился (избыток N^{15} равен всего 0,04 атом-процента). В варианте же 4, в котором культура азотобактера развивалась в присутствии 5 мг аммиачного азота в среде и использовала из них 3,75 мг, избыток «меченого» азота в составе аммиака среды оказался уже равным 1,68 атом-процента. Из этого сопоставления следует, что при наличии аммиачного азота в среде, легче вступающего в обменные превращения с клеточным веществом азотобактера, остается меньше «меченого» азота в составе клеток (избыток 0,09 атом-процента), а больше переходит в состав аммиака среды (избыток N^{15} равен 1,68 атом-процента). Очевидно, в присутствии немеченого аммиака в среде «меченый» молекулярный азот легче вступает в обменные превращения и в силу этого оказывается в большем количестве в составе аммиака среды. Такое предположение подтверждает и вариант 1, в котором фиксации молекулярного азота не было, а в составе аммиака среды меченый азот оказался в количестве, соответствующем избытку N^{15}, равному 0,15 атом-процента. Этот избыток N^{15} обнаружился в среде при содержании в ней 20 мг неиспользованного аммиачного азота. Так как в варианте опыта № 2 в среде осталось только 15 мг неиспользованного аммиачного азота, то при этой же интенсивности обмена между «меченым» и немеченым азотом концентрация «меченого» азота в составе аммиака среды должна возрасти примерно в два раза, что и обнаружено в опыте. В варианте 3 в среде осталось 5,75 мг неиспользованного аммиачного азота, а в варианте 4— 1,25 мг. На эти дозы оставшегося в среде неиспользованного аммиачного азота то же количество вовлеченного в реакции «меченого» азота должно дать повышение избытка атом-процентов N^{15} соответственно в каждом случае в два-три раза, что практически и наблюдалось в условиях эксперимента. Все это говорит в пользу признания обменных превращений между «меченым» и немеченым азотом, не связанных или же очень мало связанных с действительной фиксацией молекулярного азота, которая в условиях описанных экспериментов не могла происходить благодаря наличию в среде значительных доз аммиака и слишком высокому содержанию кислорода в газовой смеси. В силу этого выводы авторов, что в описанных условиях эксперимента имеет место азотфиксация и фиксированный азот выделяется в больших количествах в среду, в форме аммиака,— не могут считаться достаточно обоснованными. При использовании в опытах огромного количества клеток азотобактера и возможности взаимного обмена между «меченым» и немеченым азотом наблюдавшимся явлениям можно дать другое и, как нам кажется, более обоснованное толкование. Фиксацию азота атмосферы нельзя сводить к чисто химическому взаимодействию, осуществляющемуся постоянно при наличии в среде каталитического агента. Фиксация молекулярного азота представляет собой сложный физиологический процесс, тесно связанный с другими физиологическими процессами, в частности с ростом и размножением живого организма. В силу этого данный процесс может успешно совершаться только при определенных условиях и быстро прекращаться при смене этих условий. Нельзя рассматривать клетки азотобактера как «мешки с ферментами», фиксирующие молекулярный азот даже в тех случаях, когда в нем нет никакой потребности у организма, а продукты фиксации (аммиак) могут отравлять организм. Живая клетка есть целостный организм, каждая особенность которого была выработана в процессе эволюции и является продуктом приспособления к условиям окружающей среды. В силу этого и физиологические процессы в ней тесно связаны с жизнедеятельностью организма и создают базу для обмена между клеткой и внешней средой.

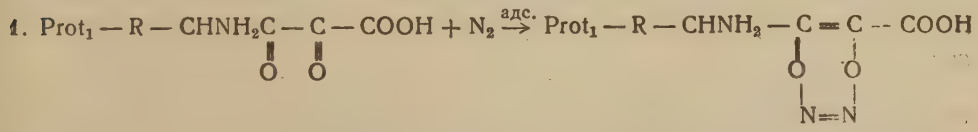
Из изложенного следует, что в разобранной работе авторы сделали попытку путем использования густых суспензий азотобактера затормозить его размножение, но оставить процесс азотфиксации продолжающимся.

Это обстоятельство и должно было привести к накоплению в среде аммиака. Такого типа попытки делались и ранее. Почти 25 лет тому назад С. Н. Виноградский (1932) путем повышения щелочности среды за счет введения в нее в качестве энергетического материала солей органических кислот приводил данные об образовании аммиака в качестве первичного продукта азотфиксации. Однако приведенные им доказательства, как мы уже указывали ранее (Федоров, 1948, 1952), не могут считаться достаточными. Аналогичная попытка была сделана также Работновой с сотрудниками (1949, 1953), сначала путем создания в культурах азотобактера особых условий аэрации, а затем — созданием щелочной реакции в среде за счет внесения в нее в качестве энергетического материала солей органических кислот. В первом случае в среде были обнаружены небольшие количества аммиака и каких-то других продуктов, но эти опыты, как мы уже указывали ранее (Федоров, 1953), также не могут служить основанием для признания, что аммиак в культурах азотобактера образуется первичным путем. Во второй же работе аммиак в среде не был найден, но в ней оказались какие-то другие продукты, химическая природа которых осталась неизвестной. Эти данные Работновой согласуются с нашими данными о возможности массового накопления в среде продуктов азотфиксации (Федоров, 1952), среди которых аммиак обычно не обнаруживается. В наших опытах были случаи, когда накопление азота в среде достигало 60—70% от всего азота, фиксированного культурой азотобактера, но и здесь аммиак отсутствовал или обнаруживался в следах. Эти случаи чаще всего наблюдаются при использовании в качестве энергетического материала соединений, содержащих кетогруппу или же способных при окислении дать соединения с кетогруппой, которая, по нашим данным, и отвлекает на себя часть продуктов азотфиксации. В опытах Работновой с сотрудниками такой же результат был получен при использовании в качестве энергетического вещества солей уксусной, масляной и молочной кислот. При использовании этих веществ в качестве источника углерода азотобактер около 50% фиксированного азота выделяет в среду, но не в форме аммиака. В этом пункте данные Работновой сходятся с нашими и подтверждают наше положение, что аммиак не является первичным продуктом азотфиксации. Но свое объяснение усиленного накопления связанного азота в среде в молодых и активно размножающихся культурах Работнова связывает с появлением щелочной реакции. Однако природа влияния этих солей, вероятнее всего, связана с возможностью образования кетокислот (например, щавелевоуксусной кислоты при окислении уксусной; пировиноградной — при окислении молочной кислоты и т. д.), которые и отвлекают в молодых и активно фиксирующих культурах какие-то продукты азотфиксации. Поэтому данные Работновой с сотрудниками не только не расходятся с нашими представлениями об азотфиксации, но как будто в данном случае подтверждают их. Особенно важным является положение, что аммиак среди продуктов, выделяемых культурой азотобактера в среду, не обнаруживается. Это положение находится в явном противоречии с данными Ньютона, Вильсона и Бурриса, и поэтому нам представляется неоправданным заключение Работновой (1954), что «американским исследователям удалось непосредственно обнаружить аммиак, как первый стабильный продукт азотфиксации». Это заключение следует считать преждевременным и поспешным, а поспешность, как известно, уместна только в некоторых случаях, которые не приложимы к решению таких сложных и трудных вопросов, как химизм фиксации молекулярного азота бактериями.

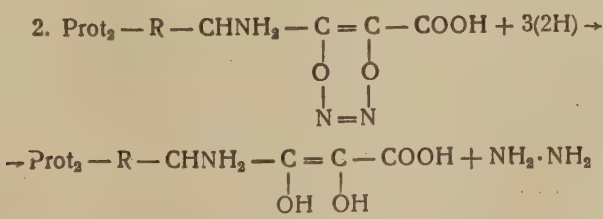
Все это приводит нас к заключению, что аммиачная теория азотфиксации не может считаться не только доказанной, но даже и серьезно обоснованной. При самом тщательном рассмотрении возможных путей включения в метаболизм азотобактера молекулярного азота мы не можем обнаружить в протоплазме клеток этого азотфиксирующего микроорганизма

такого механизма, который мог бы обеспечить прямое взаимодействие между молекулярным азотом и активированным или же молекулярным водородом с образованием аммиака. Это факт, с которым, к сожалению, приходится считаться, так как одного желания видеть такое взаимодействие осуществляющимся недостаточно для того, чтобы оно действительно осуществлялось. Поэтому, не желая навязывать свою точку зрения другим, мы все же должны напомнить, что в настоящее время легче представить себе ход этого процесса идущим в соответствии с нашей схемой (Федоров, 1949, 1952), в основе которой лежит представление, что молекулярный азот, предварительно адсорбированный коллоидным носителем азотфиксирующего фермента и частично активированный им, реагирует с активной группой последнего по месту карбонильных кислородов и сначала частично окисляется, а затем, после смены коллоидного носителя, восстанавливается водородом, доставляемым в реагирующую систему флавиновыми дегидразами. При этом восстановлении в промежуточных этапах должны образоваться гидразинные производные, которые в нормальных условиях жизнедеятельности азотобактера и превращаются далее в аминокислоты, а затем и в белковые вещества. Только в некоторых, строго определенных, случаях они могут послужить основанием для образования аммиака, однако и в этих случаях аммиак является не первичным продуктом азотфиксации, а возникает вторично, в ходе дальнейших превращений гидразинных производных. Это решение вопроса вполне приемлемое с биологической и физиологической точки зрения и рассматривающее фиксацию атмосферного азота как функцию роста азотофиксирующего микроорганизма, как функцию синтеза им клеточного вещества, следует признать наиболее вероятным.

Эта вероятность определяется не только ходом постепенного восстановления первичных продуктов азотфиксации, но и возможностью участия в этом процессе конкретных дегидразных систем, доставляющих к первым продуктам фиксации активный водород. Как мы уже указывали в своих предыдущих работах (Федоров, 1952), одной из таких систем должна быть признана флавиновая дегидразная система, окислительно-восстановительный потенциал которой близок к окислительно-восстановительному потенциалу азотфиксирующего фермента (нитрогеноксидазы), простетическая группа которого прореагировала с молекулярным азотом в соответствии со следующей схемой:



Этот продукт взаимодействия между активной группой азотфиксирующего фермента и молекулярным азотом и подвергается в дальнейшем восстановлению активным водородом, доставляемым флавиновыми дегидразами:



В ходе этого взаимодействия первичный продукт азотфиксации превращается в гидразин, который реагирует далее с кетокислотами и уходит на образование аминокислот, а активная группа азотфиксирующего фер-

мента вновь окисляется активированным кислородом и возвращается к состоянию, способному взаимодействовать с молекулярным азотом. Вышеописанный цикл реакций вновь может повториться и снова приведет к связыванию молекулярного азота.

Однако успешное взаимодействие между азотом, временно вошедшим в состав простетической группы азотфиксирующего фермента, и активным водородом может происходить только при пониженном парциальном давлении кислорода, «так как при высоком парциальном давлении кислорода восстановленная форма желтого дыхательного фермента начинает самопроизвольно отдавать свой водород молекулярному кислороду с заметной скоростью... Эти положения позволяют не только объяснить механизм угнетающего действия повышенных доз молекулярного кислорода, но и дают основу для решения вопроса, какой переносчик водорода (цитохром С или же желтый фермент) доставляет в указанную реакцию активный водород. Если бы таким переносчиком был цитохром. С, то чувствительность реакции к повышенным давлениям кислорода не должна иметь места. Поскольку реакция фиксации чувствительна только к высоким дозам кислорода, следует думать, что водород доставляется в реагирующую систему флавиновыми ферментами» (Федоров, 1952, 1954). Так было формулировано нами влияние молекулярного кислорода на процесс азотфиксации на основе данных Бэрка (Burk, 1930) и наших (Федоров, 1948).

В последнее время получены новые экспериментальные доказательства, что дело обстоит именно таким образом. В апрельском номере «Nature» за 1954 г. опубликована статья австралийского исследователя Паркера (Parker, 1954). Он культивировал Az. vinelandii и Az. chroococcum на тонком слое жидкой питательной среды с 1% сахарозы. При наличии в атмосфере 4% молекулярного кислорода за 21 день опыта азотфиксация Az. vinelandii оказалась равной 23,5 мг, а Az. chroococcum — 21,6 мг на 1 г сахарозы. При наличии же в атмосфере 20% молекулярного кислорода продуктивность азотфиксации снизилась соответственно до 8,1 и 7,4 мг на 1 г использованной сахарозы. Эти данные Паркера вполне согласуются с нашими данными и подтверждают наше мнение, что подавление азотфиксации при высоком парциальном давлении кислорода происходит в результате конкуренции между молекулярным кислородом и молекулярным азотом за мобилизованный из энергетического вещества водород. Паркер не ссылается на наши работы (очевидно, они ему не известны), но рассматривает азотфиксацию как «вид дыхания», в котором в качестве конечного акцептора водорода может выступать молекулярный азот.

Указанные данные подтверждают конкуренцию между кислородом и азотом за активный водород и также показывают, что в условиях опытов Ньютона, Вильсона и Бурриса азотфиксация не могла происходить. Поэтому наблюдениям, приведенным в работе этих авторов, следует дать иное объяснение, которое в данном обзоре и изложено нами. В силу этого новые экспериментальные данные, «доказывающие» первичное образование аммиака в процессе азотфиксации, не приносят с собой нового решения проблемы и не изменяют фактического положения дела. Аммиак возникает вторичным путем. Поэтому наше решение в настоящее время остается наиболее вероятным и наиболее полно объясняющим всю сумму экспериментальных данных, добытых при изучении азотфиксации азотобактером и другими почвенными бактериями.

Московская сельскохозяйственная академия
им. К. А. Тимирязева

Получено 25. IV. 1955 г.

ЛИТЕРАТУРА

Виноградский С. Н. Об усвоении свободного азота атмосферы микробами. Арх. биол. наук, 3, 293, 1895.

Виноградский С. Н. (S. Winogradsky). Sur la synthèse de l'ammoniaque par les Azotobacter du sol. Ann. Institut Pasteur, 48, 269, 1932.

Виноградский С. Н. (S. Winogradsky). Sur la synthèse enzymatique de l'ammoniaque dans le sol. Ann. Institut Pasteur, **66**, 97, 1941.
Гапон Е. Н. Теория фиксации азота атмосферы микроорганизмами. ДАН СССР, LVIII, 249, 1947.
Костычев С., Рыскальчук А. и Швецова О. Биохимические исследования над связыванием молекулярного азота микробом Az. agile. Тр. Отдела с-х. микробиологии Г. И. О. А., I, 91, 1926.
Миненков А. Р. Образование аммиака при связывании молекулярного азота микробом. Изв. С.-х. академии им. К. А. Тимирязева, № 3, 116, 1928.
Работнова И. Л. Реферат работы Ньютона, Вильсона и Бурриса «Непосредственное обнаружение аммиака как промежуточного продукта азотфиксации у азотбактера». Микробиология, XXIII, вып. 6, 745, 1954.
Работнова И. Л. и Глаголева А. Обогащение субстрата азотистыми веществами при развитии азотобактера на солях органических кислот. Микробиология, XXII, 506, 1953.
Работнова И. Л., Кондратьева Е., Нетте И. и Аронес З. Фиксация азота атмосферы азотобактером при разных условиях аэрации. Микробиология, XVIII, 509, 1949.
Работнова И. Л. и Родионова Г. Обогащение субстрата азотистыми веществами при развитии Azotobacter. Микробиология, XXII, вып. 4, 415, 1953.
Федоров М. В. Биологическая фиксация азота атмосферы. Монография. 1948; 1952.
Федоров М. В. Теория процесса фиксации молекулярного азота бактериями при участии специфического катализатора. Микробиология, XVIII, 498, 1949.
Федоров М. В. Об аммиаке как первичном продукте фиксации молекулярного азота бактериями. Микробиология, XXI, 348, 1952.
Федоров М. В. Частичное отвлечение продуктов фиксации молекулярного азота из клетки азотобактера в питательную среду. Микробиология, XXI, 395, 1952.
Федоров М. В. Почвенная микробиология, изд-во «Сов. наука», 1954, стр. 289.
Burk D. Azotase and nitrogenase in Azotobacter. Enzym., **3**, 25, 1934.
Newton I., Wilson P. a. Burris R. Direct demonstration of ammonia as an intermediate in nitrogen fixation by Azotobacter. J. Biol. Chem., **204**, 445, 1953.
Parker C. Effect of oxygen on the fixation of nitrogen by Azotobacter. Nature, **173**, No. 4408, 780, 1954.
Roberg M. Beiträge zur Biologie von Azotobacter. Jb. wiss. Bot., **82**, 65, 1935; **83**, 567, 1936.
Wilson P. a. Burris R. The mechanism of biological nitrogen fixation. Bact. Rev., **11**, 41, 1947.

КРИТИКА

М. В. Горленко. **Бактериальные болезни растений,** изд-во «Советская наука», 1953.

Книга с указанным заглавием разделяется на две части: общая часть и специальная.

Общая часть содержит описание свойств фитопатогенных бактерий, взаимоотношений бактерий и растений, описание источников инфекции, иммунитета растений и все, что касается изучения общих вопросов, связанных с бактериальными болезнями растений. Во второй части описываются отдельные бактериальные болезни, их симптомы, свойства возбудителей и меры борьбы.

Из всех частей книги более или менее удовлетворительно изложены главы: VI — «Взаимоотношения фитопатогенных бактерий с окружающей средой», VI — «Источники инфекций» и VII — «Географическое распространение бактериозов».

В основном же автор в рецензируемой книге или повторяет те же ошибки, которые сделал в предыдущей своей книге «Болезни растений и внешняя среда» (изд. Общества испытателей природы, 1950), на что нами было в свое время указано (см. журнал «Микробиология», т. XXIII, вып. 2, 1954), или делает новые, еще более грубые ошибки.

Уже в предисловии автор указывает, что весь материал второй части распределен не по поражаемым растениям, а по симптомам, которые вызывают фитопатогенные бактерии у больных растений. Это, по нашему мнению, является серьезной ошибкой автора и одним из основных недочетов книги.

Чем же руководствуется автор, располагая материал о болезнях растений по симптомам? Приводим слова самого автора: «Такое расположение материала автору кажется подходящим потому, что в настоящей книге, являющейся учебным руководством по одной только группе заболеваний, наиболее целесообразно дать представление о разных типах бактериозов на конкретном материале» (стр. 5). С этим положением автора нельзя согласиться, так как распределение материала по симптомам совершенно запутает учащихся, потому что одна и та же болезнь может иметь разные симптомы и, наоборот, один и тот же симптом может быть при разных болезнях.

То положение, что автор рекомендует свою книгу не только для университетов, но и для сельскохозяйственных вузов, увеличивает его ответственность. Наука о бактериальных болезнях растений главной своей целью имеет оздоровление сельскохозяйственных растений. Сообразно этому весь материал должен быть расположен в зависимости от потребности сельского хозяйства. Работникам сельского же хозяйства в первую очередь необходимо знать болезни отдельных культур сельскохозяйственных растений, независимо от того, принадлежат ли определенные бактерии, например, картофеля, к сосудистым или паренхиматозным типам болезней. Для них важно найти в определенном месте книги все, что касается бактериальных болезней картофеля, плодовых деревьев и других растений, а не искать описаний этих болезней по всей книге по их симптомам, тем более, что учащиеся и не имеющие еще достаточного опыта читатели ведь не знают даже, какими симптомами обладают бактериозы картофеля, фасоли и других растений. Кроме того, существуют более объективные причины, по которым нельзя располагать весь материал указанным выше способом.

Дело в том, что многие бактериозы имеют смешанный характер проявления болезни. Например, автор отнес такие бактериозы, как черная ножка картофеля, к типу гнилей, но в то же время эта болезнь является сосудистой болезнью, о чем, кстати, автор, ничего не сказал при описании этой болезни. Совершенно то же можно сказать почти о всех бактериозах бобовых растений. Автор отнес их к бактериальным пятнистостям, но с таким же правом мы можем отнести их и к сосудистым болезням.

То же можно сказать по поводу многих других бактериальных болезней.

Таким образом, практика и жизнь ставят перед нами задачу описания болезней отдельных сельскохозяйственных культур, а не описания отдельных симптомов болезней, вне связи с требованиями жизни.

Автор не достаточно критически относится к цитируемым литературным данным и ряд положений, не совсем ясных или спорных, выдает за несомненные истины.

Так, в отделе «Происхождение B. tumefaciens» автор приводит чрезвычайно сомнительные данные о принадлежности бактерий, выделенных Паносяном из клубеньков лоха к Ps. radicicola [1]. Автор при этом без всякой критики указывает, что по своим свой-

[1] Номенклатура автора.

ствам бактерии лоха весьма близки к клубеньковым бактериям (стр. 39). Автору должно быть известно, что бактерии лоха по описанию Паносяна и Красильникова выделяют газ на многих сахарах, разжижают желатину, что не наблюдается ни у одного из представителей клубеньковых бактерий. Кроме того, описание бактерий из лоха дано Паносяном так, что нет никакой уверенности не только в том, что эти бактерии усваивают азот воздуха, но даже, что они вообще образуют клубеньки на указанном растении. Вообще зачем надо было приводить такой материал, когда из области клубеньковых бактерий имеются гораздо лучшие примеры специфичности, хотя бы, например, бактерии клевера и бактерии люцерны и др.

Ключ для определения фитопатогенных бактерий (стр. 20—22), который прилагает автор в книге, по существу никому не нужен, так как ни один исследователь фитопатогенных бактерий практически не будет им пользоваться, потому что будет определять по питающим растениям и по тем бактериям, которые встречаются на них, что неизмеримо проще, чем определять по ключу, так как определение по питающим растениям сразу суживает круг бактерий, с которыми надо сравнивать изолированные микроорганизмы, чтобы их определить. Конечно, это возможно только в том случае, если в книге указаны все бактерии не по симптомам, как сделал это автор, а по растениям. Это лишний раз служит доказательством, что автор избрал неправильный путь изложения.

В главе «Происхождение желтопигментных, белых и флюоресцирующих фитопатогенных бактерий» автор делает те же ошибки, что и в предыдущей, уже упомянутой книге.

В книге много мелких ошибок и неточностей, и нет никакой возможности перечислить все их. Это говорит о том, что ни автор, ни редактор не уделили должного внимания для устранения этих дефектов. Так, например, автор, определяя термин антиген, утверждает: «Антигены — вещества, в данном случае культуры бактерий». В каком это данном случае можно сказать, что вещества — это культуры бактерий? (стр. 72).

В главе «Способы определения зараженности семян бактериозами» автор для изолирования фитопатогенных бактерий рекомендует делать посев семян на агаровые пластинки в бактериологические чашки. Вырастающие около них колонии бактерий определяются различными реакциями. С точки зрения последних данных современной микробиологии, особенно учения об антагонизме, такой метод изолирования фитопатогенных бактерий должен быть совершенно оставлен, потому что большинство фитопатогенных бактерий не вырастает при таком посеве, так как фитопатогенные бактерии будут задержаны или совсем заглушены бактериями антагонистами, которые всегда имеются на поверхности семян.

Изложенный способ ведет свое начало из книги Ячевского («Бактериозы растений», стр. 232 и др.), но он не верен и слишком устарел, а автор к нему отнесся явно не критически (стр. 75 и 76). Кроме того, этот метод вообще никогда не применялся бактериологами и был более популярен среди микологов для выделения и изучения фитопатогенных грибов.

В главе «Ожоги, вызываемые бактериями» автор сближает бактерии, вызывающие ожоги Erwinia amylovora и Ps. cerasi, и утверждает: «Вероятно, оба эти вида имеют общего предка и в процессе эволюции произошло приспособление к паразитированию одних преимущественно на семячковых, других на косточковых» (стр. 130). В данном случае автор стремится опять обобщить такие явления, обобщать которые нет никаких ни экспериментальных, ни теоретических оснований.

Ожог плодовых деревьев, вызываемый Erw. amylovora, и рак косточковых плодовых, вызываемый Ps. cerasi. правда, имеют очень сходные признаки, однако симптом истечения экссудата из пораженных ветвей является особенно характерным для первой болезни. В литературных данных это подтверждают все исследователи, работавшие с этой болезнью. Нам кажется чрезвычайно странным утверждение автора, что «образование на пораженной коре капель жидкости весьма неустойчиво и может меняться в зависимости от внешних факторов». Это утверждение является еще более странным потому, что у нас в СССР этой болезни нет и автор, не имея дела с ней, не имел, таким образом, случая убедиться в достоверности этого признака. Таким образом, несомненно, автор по этому поводу высказывает исключительно только заочное суждение. Утверждение автора, что свойство флюоресценции (в данном случае у возбудителей болезни Ps. cerasi) также весьма неустойчиво, слишком голословно и, более того, совсем неверно. Признак флюоресценции у флюоресцирующих бактерий, к которым принадлежит Ps. cerasi, может потеряться, но на разных средах может и восстановиться. У другого же возбудителя Erw. amylovora, который относится не только к разным родам, но и к разным семействам, этого признака флюоресценции вообще нет, и у этих бактерий он никогда не появляется. Уже по одному этому признаку и признаку перитрихиального расположения жгутиков Erw. amylovora далеко отстоят от Ps. cerasi, и, таким образом, сближать их, как это делает автор, ни в коем случае недопустимо, тем более, что книга рекомендована как учебная.

При описании различных бактериозов автор в одних случаях описывает, хотя и очень кратко, свойства бактерий, например Ps. malvacearum [2], Ps. atrofaciens, Ps. lachry-

[2] Номенклатура автора.

mans и даже Ps. citri (болезнь, не имеющая места в СССР), в других же случаях свойства бактерий совсем не описываются, например Ps. tabacum, Ps. angulatum, Ps. heterocea, Ps. phaseoli, Ps. medicaginis f. phaseolicola и др. Читатели совершенно дезориентируются в одних этих названиях, тем более, что автор относит в один род такие несходные микроорганизмы, которые в настоящее время разделены на роды,— Xanthomonas (X. phaseoli, X. translucens, X. malvacearum и др.) и Pseudomonas (Ps. atrofaciens, Ps. medicaginis f. phaseolicola и др.), с совершенно разными признаками, что могут подтвердить все исследователи, имевшие в руках эти микроорганизмы и исследовавшие их свойства.

С этой точки зрения еще более странным кажутся такие безаппеляционные заявления автора (стр. 118) в главе о пятнистости фасоли: «Небольшие отклонения в свойствах всех перечисленных бактерий, вероятно (разрядка наша.— *В. И.*), можно отнести за счет влияния внешних условий и разной реакции растений на внедрение паразитов».

Это заявление относится к совершенно разным по своим свойствам бактериям: Ps. phaseoli, Ps. phaseoli f. fucans, Ps. heterocea, с одной стороны, и Ps. medicaginis, Ps. vignae, с другой. Все это происходит от того, что автор искусственно старается соединить несоединимое Ps. phaseoli[3] и Ps. medicaginis f. phaseolicola. Все это, мы повторяем, так дезориентирует читателя, особенно в связи вообще с калейдоскопичностью изложения всей книги, что он совершенно не в состоянии будет разбираться в свойствах бактерий.

На стр. 29 и 149 автор при описании туберкулезных опухолей растений совершенно искажает факты и дает абсолютно неверное представление о паталого-анатомических процессах, связанных с этой болезнью. Автор пишет: «Раковые опухоли образуются в результате разрастания клеток или их усиленного деления; туберкулезные являются следствием расширения межклеточных пространств». К сведению автора и редакции, которая напечатала эту книгу, следует сказать, что в данном случае не происходит никакого расширения межклеточного пространства, а происходит распад клеток, вследствие чего образуется пустота. В том и другом случае, т. е. опухолей раковых (B. tumefaciens) и опухолей туберкулезных (Ps. savastanoi, B. beticolum), опухоли происходят одинаково от ненормального и быстрого деления клеток, но в случае туберкулезных опухолей клетки их под влиянием деятельности бактерий начинают распадаться и образуют внутри опухолей слизь, наполненную бактериями. Впоследствии в этих же местах образуются пустоты или каверны, подобно тем кавернам, которые образуются в легких от туберкулезных бактерий. От этого и болезнь у растений получила название туберкулеза (маслины, свеклы и других растений). От автора мы вправе требовать точного, а не искаженного описания процессов, которые идут в больных растениях. Это требование особенно важно для руководства, которое пишется для студентов, у которых еще не развилось критического отношения к восприятию научных истин. С этой точки зрения чрезвычайно удивительно, как книга с большим количеством элементарных ошибок могла получить одобрение и даже быть допущенной Главным управлением высшего образования Министерства Культуры СССР для учебных целей.

В. П. Израильский

[3] Номенклатура автора.

ХРОНИКА

СОВМЕСТНОЕ ЗАСЕДАНИЕ УЧЕНЫХ СОВЕТОВ ИНСТИТУТА МИКРОБИОЛОГИИ АН СССР И ВСЕСОЮЗНОГО НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОГО ИНСТИТУТА ГИДРОЛИЗНОЙ И СУЛЬФИТНО-СПИРТОВОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ

В исторических решениях январского Пленума ЦК КПСС намечены грандиозные задачи, которые стоят перед трудящимися нашей страны по подъему сельского хозяйства, в том числе и животноводства.

В частности, намечено в 1960 г. расширить производство концентрированных кормов по сравнению с 1953 годом в пять с лишним раз. Значительно расширяется производство специализированных комбикормов, составной частью которых являются кормовые дрожжи, вырабатываемые из непищевого сырья. Их применение в качестве корма может значительно поднять продуктивность животноводства, птицеводства и звероводства. В связи с этим перед гидролизной промышленностью стоят большие задачи по дальнейшему резкому увеличению производства кормовых дрожжей. Эта задача может быть успешно выполнена при тесном содружестве работников науки и производства.

2 апреля 1955 г. состоялось совместное заседание Ученых советов Института микробиологии АН СССР и Всесоюзного института гидролизной промышленности (ВНИИГС), посвященное дальнейшему развитию исследований, направленных на получение высококачественных кормовых дрожжей из непищевого сырья.

Это совещание имело также целью координацию работ, проводимых по проблеме «Управление обменом веществ микроорганизмов с целью интенсификации микробиологических процессов в промышленности и сельском хозяйстве», куратором которой является Институт микробиологии АН СССР.

На совещании присутствовали сотрудники вышеуказанных институтов, представители главка и Министерства бумажной и деревообрабатывающей промышленности и работники производства.

Открывая совещание, директор Института микробиологии АН СССР чл.-корр. АН СССР А. А. Имшенецкий отметил тот положительный факт, что обсуждение проблемных вопросов, стоящих перед гидролизной промышленностью, происходит при участии различных специалистов.

А. А. Имшенецкий подробно остановился на задачах данного совещания и отметил те разделы работ в области получения высококачественных кормовых дрожжей, по которым в настоящее время исследования проводятся недостаточно. К ним относятся:

1. Изучение физиологии микроорганизмов, применяемых в гидролизном производстве.

2. Подыскание более эффективных новых рас дрожжей.

3. Организация научных исследований по гидролизу древесины при помощи биохимических методов.

Затем были заслушаны доклады научных сотрудников ВНИИГС П. Н. Фишера и А. П. Крючковой.

В докладе «Пути интенсификации непрерывного процесса накопления биомассы дрожжей» П. Н. Фишер подробно остановился на новой схеме непрерывного ведения процесса накопления дрожжей, которая была внедрена в 1951—1952 гг. на заводах гидролизной промышленности и в 1954 г. на сульфитно-спиртовых заводах.

Внедрение этого метода позволило поднять производительность в 1 м³ чана более чем в два раза, уменьшить расход воздуха в четыре раза и электроэнергии в три раза.

Увеличение производительности аппаратов для выращивания кормовых дрожжей за счет интенсификации этого метода было достигнуто 1) увеличением концентрации сахара в перерабатываемом субстрате с 0,5 до 2—2,5% и 2) созданием оптимальных условий для роста дрожжей за счет соответствующей подготовки субстрата, а также соблюдения рационального технологического режима процесса выращивания дрожжей, который разработан для каждого вида сырья.

Далее докладчик подробно остановился на работах по автоматизации регулирования процессов непрерывного выращивания дрожжей, с применением в качестве основного показателя нормального накопления биомассы дрожжей изотопа фосфора, специально введенного в субстрат в минимальных дозах.

В докладе А. П. Крючковой «Селекция дрожжей, утилизирующих пентозы» были указаны методы, при помощи которых удалось получить практически ценные культуры микроорганизмов. Разрешение этой задачи было осуществлено путем отбора лучших

рас из производства и улучшения природных свойств микроорганизмов методом направленного изменения.

В первый период работы дрожжевых цехов, когда посылаемые дрожжевой лабораторией ВНИИГС музейные культуры, не приспособленные к древесным средам, быстро вытеснялись из чанов спонтанно появившимися видами, задача селекции заключалась в том, чтобы найти наиболее урожайные культуры среди многочисленных штаммов, выделенных из производства, и рекомендовать для работы дрожжевых цехов лучшие из них. Культуры, подобранные для работы заводов, дали возможность поднять производительность дрожжевых цехов, улучшить качество товарных дрожжей и перевести работу дрожжевых цехов на барду без нейтрализации. Дальнейшая работа по селекции заключалась в совершенствовании дрожжей, с которыми работают заводы, путем отбора новых, наиболее урожайных рас, образовавшихся в производственных условиях под действием факторов внешней среды, а также в получении новых экспериментальных вариантов дрожжей, обладающих полезными для производства свойствами.

При длительном культивировании в производственных условиях дрожжи образуют новые расы, которые отличаются от исходных своими морфологическими и физиологическими особенностями. Это дает возможность путем повторной селекции подбирать из числа вновь образовавшихся рас наиболее активные расы для работы заводов.

Большинство видов дрожжей, с которыми работают гидролизные и сульфитно-спиртовые заводы, потребляют из пентоз барды только ксилозу, оставляя арабинозу не использованной. В результате селекции среди производственных рас дрожжей найдены организмы, усваивающие арабинозу и обеспечивающие высокий выход массы на барде без нейтрализации.

В лабораторных условиях получены новые арабинозные варианты производственных дрожжей рода Candida, Х-9 и Л-2, способные, в отличие от исходных культур, усваивать арабинозу.

Эти формы были получены путем длительного культивирования на синтетической среде Ридер, содержащей арабинозу. Приобретение новых ферментативных свойств дрожжами осуществлялось быстрее в том случае, если они культивировались на среде с автолизатом, полученным из клеток тех микроорганизмов, которые обладали способностью сбраживать этот сахар.

По заслушанным докладам развернулись прения. В обсуждении приняли участие акад. В. Н. Шапошников, чл.-корр. АН СССР А. А. Имшенецкий, профессора М. Н. Мейсель, Е. А. Плевако, В. И. Кудрявцев, директор ВНИИГС С. В. Чепиго и сотрудник Московской ветеринарной академии Ф. Ф. Хохлов.

Акад. Шапошников указал, что до настоящего времени мало уделяется внимания изучению химического состава гидролизатов, которые получены в результате обработки различных сортов древесины.

Касаясь работы лабораторий гидролизных заводов, акад. Шапошников отметил необходимость усиления их квалифицированными микробиологами.

В выступлении М. Н. Мейселя было отмечено, что сотрудники ВНИИГС недостаточно уделяют внимания качественной характеристике кормовых дрожжей. До настоящего времени ведется учет качества товарных дрожжей только по общему содержанию белка. М. Н. Мейсель предлагает учитывать также аминокислотный состав, витамины и биологически активные вещества типа пептидов и др. Для этого необходимо сочетать микробиологические методы исследования с изотопными, при помощи которых удается точно и быстро проводить количественное определение витаминов и аминокислот.

Касаясь вопроса о дальнейшем повышении ценности дрожжей, проф. Мейсель указал на те пути, которые можно использовать для вышеуказанной цели. Им были отмечены следующие три направления в этой работе:

1) селекция более перспективных штаммов из производства,

2) улучшение состава питательной среды для культивирования дрожжей (например, среды обогащенные витаминами и т. д.),

3) получение новых высокоурожайных дрожжевых организмов путем направленного их изменения.

Уделив большое внимание вопросу о необходимости использования новых методов исследования при решении вопросов по улучшению качества кормовых дрожжей, проф. Мейсель рекомендовал шире использовать современную микроскопическую технику, в частности — фазово-контрастный микроскоп и анаптральную оптику. Несколько критических замечаний было сделано по поводу метода автоматизации, который был предложен П. Н. Фишером для регулирования процесса непрерывного выращивания дрожжей. Принцип этого метода заключается в использовании дрожжами изотопа фосфора, который вводится в среду в минимальных количествах; по поведению фосфора можно было бы наглядно судить о происходящих в среде изменениях. Однако М. Н. Мейсель указал, что, во-первых, по его мнению, этот метод не является достаточно точным для вышеуказанных целей, если в него не будет внесен целый ряд поправок. Во-вторых, введение радиоактивного фосфора в большие объемы жидкости, даже при малой его активности, может снизить кормовую ценность дрожжей. Период распада радиоактивного фосфора — около 15 дней. Следовательно, дрожжи, прежде чем дойдут до потребителя, должны быть длительное время выдержаны на складе.

Проф. Е. А. Плевако в своем выступлении подробно осветила то большое значение, которое имеет, при непрерывном процессе выращивания дрожжей, использование сред

с более высоким содержанием сахара. Отмечая несомненные успехи, которые были достигнуты за последние годы в области повышения выходов кормовых дрожжей и улучшения их качества, Е. А. Плевако отметила, что наблюдается некоторое отставание микробиологической части работы от тех результатов, которые достигнуты технологами.

В. И. Кудрявцев в своем выступлении отметил, что положительные результаты дало применение метода непрерывной селекции дрожжей из производства. Однако существенным недостатком в селекционной работе, по его мнению, является то, что отбор дрожжей ведется не по ряду признаков, а только по одному. Касаясь вопроса о дальнейших путях исследований в этой области, В. И. Кудрявцев указал, что необходимо и в дальнейшем улучшать качество дрожжей и сделать их пригодными и для пищевых целей.

В выступлении директора ВНИИГС С. В. Чепиго было отмечено, что для успешного разрешения больших задач, которые партия и правительство поставили перед гидролизной промышленностью, необходимо не только расширение сети дрожжевых цехов при гидролизных и сульфитно-спиртовых заводах, но и дальнейшее усовершенствование всех технологических процессов. Необходимо идти по линии дальнейшего повышения производительности оборудования, увеличения выходов продукции и т. п. В заключение С. В. Чепиго отметил, что совместная, содружественная работа сотрудников Института микробиологии АН СССР и ВНИИГС будет способствовать быстрейшему и успешному решению задач в области дальнейшего совершенствования и расширения дрожжевого производства.

Ф. Ф. Хохлов обратил внимание на то большое значение, которое имеет использование кормовых дрожжей для повышения продуктивности птицеводства и звероводства. На Томилинской птицефабрике в 1954 г. дорогостоящие пищевые продукты (мясо-костная и рыбная мука, пекарские дрожжи) были на 50% заменены кормовыми дрожжами. Далее Ф. Ф. Хохлов, останавливаясь на качественной оценке кормовых дрожжей, указал, что, к сожалению, товарные дрожжи, выпускаемые различными заводами, значительно отличаются по своему качеству. Так, например, Канский завод производит дрожжи, лучшего качества, нежели Хорский завод, несмотря на то, что последний дает бóльший выход товарной продукции.

Чл.-корр. АН СССР Имшенецкий в своем выступлении указал на те значительные результаты, которые достигнуты гидролизной промышленностью за последние три-четыре года в области биохимии, технологии и микробиологии производства кормовых дрожжей.

Останавливаясь более подробно на результатах микробиологической части работы, А. А. Имшенецкий указал, что необходимо шире практиковать исследования по выделению новых форм из производства, а также получению новых рас экспериментальным путем.

Представляют значительный интерес работы А. П. Крючковой по «приспособлению дрожжей к арабинозе». Эти исследования следует расширить.

Работникам гидролизной промышленности необходимо обратить особое внимание на изучение химического состава различных гидролизатов. Имея стандарты на различные гидролизаты, можно будет для полного их использования в качестве питательных субстратов подобрать к ним различные культуры дрожжей.

В заключение А. А. Имшенецкий отметил, что желателен более тесный контакт между микробиологической и технологической частью работ.

Совещанием была принята резолюция, в которой намечены дальнейшие пути развития научно-исследовательских работ, направленных на получение высокоурожайных и качественных кормовых дрожжей.

В качестве основных и первоочередных задач были намечены следующие:

1. Внедрение на гидролизных заводах урожайных рас дрожжей, полученных методом повторной селекции из производства.

2. Получение различными методами новых высокоурожайных рас дрожжевых организмов, способных усваивать ксилозу, арабинозу и органические кислоты барды гидролизных и сульфитно-спиртовых заводов, а также гидролизатов древесины и растительных остатков.

Обратить особое внимание на аминокислотный и витаминный состав кормовых дрожжей и вести селекцию, учитывая улучшение этих признаков.

3. Всесторонне изучить углеродный, азотный, витаминный и минеральный режимы питания для перспективных рас, с целью выяснения оптимальных условий режима выращивания.

4. Ускорить внедрение в промышленность оптимальных технологических режимов, способных повысить мощность предприятий, вырабатывающих кормовые дрожжи.

5. Повысить качество обработки кормовых дрожжей, с тем, чтобы они удовлетворяли требованиям ГОСТ, предъявляемым к пищевым дрожжам.

6. Усилить работы по селекции микроорганизмов, дающих высокие выходы жира и некоторых других соединений, имеющих народнохозяйственное значение.

7. Одной из важнейших проблем является также разработка методов ферментативного гидролиза древесины и растительных остатков при помощи ферментных препаратов микроорганизмов, а также выяснение возможности непосредственного сбраживания древесины при помощи микробов.

Для усиления работы по микробиологии производства кормовых дрожжей совещание считает необходимым:

1. Значительно расширить исследовательскую работу в ВНИИГС и его филиалах, а также организовать исследовательские группы при крупнейших гидролизных и сульфитно-спиртовых заводах.

2. Включить в решение этих вопросов микробиологические лаборатории системы академий наук союзных республик и филиалов АН СССР, находящихся в основных районах производства кормовых дрожжей.

3. Создание на каждом заводе постоянно действующих отделений чистых культур.

4. Считать желательным устройство периодических совещаний Ученых советов ИНМИ АН СССР и ВНИИГС для решения вопросов микробиологии гидролизного производства.

Л. Г. Логинова

О НАУЧНОЙ СЕССИИ СЕКТОРА МИКРОБИОЛОГИИ АН АРМ. ССР, ПОСВЯЩЕННОЙ ВОПРОСАМ ЭФФЕКТИВНОСТИ БАКТЕРИАЛЬНЫХ УДОБРЕНИЙ

16—17 декабря 1954 г. в Ереване состоялась научная сессия Сектора микробиологии АН Армянской ССР, посвященная вопросам эффективности бактериальных удобрений. В работах сессии приняли участие работники Академии наук, вузов, специалисты сельского хозяйства и МТС Армянской ССР.

С докладом на тему «Об эффективности применения азотобактерина в условиях Армении» выступил А. К. Паносян.

На основании своих исследований докладчик делает вывод о том, что отсутствие положительного действия азотобактерина или его эффективность зависят от физико-химического состояния почв и их биологических особенностей. Так, азотобактерин эффективен в культурно-поливных бурых, карбонатных почвах (прибавка урожая злаковых культур до 25%). Он эффективен также в малогумусных каштановых почвах, карбонатных, с небольшим количеством подвижных азотистых веществ (9—10%-ная прибавка урожая злаковых). В слабокарбонатных каштановых почвах, богатых гумусом, а также в кислых и очень богатых органическими азотистыми веществами горностепных и горнолуговых черноземах азотобактерин совершенно не эффективен. В последних почвах азотобактер или отсутствует, или находится в малом количестве.

А. В. Киракосян выступила с докладом «Распространение и выживаемость азотобактера в почвах Армянской ССР.

В бурых, культурно-поливных почвах Араратской равнины количество азотобактера наибольшее. Второе место по количеству азотобактера занимают каштановые почвы, третье место — черноземы. В горнолесных почвах азотобактер встречается в ничтожных количествах и не во всех почвах, а в горнолуговых почвах он совершенно отсутствует.

Выживаемость азотобактера, искусственно введенного в почву, различна в разных типах почв. Так, в бурых и в некоторых каштановых почвах, первоначально не содержавших азотобактера, он сохраняется очень долго. В горных черноземах и горнолуговых почвах азотобактер погибает, но в разные сроки после внесения его в почву. Внесение в почву карбоната кальция совместно с азотобактером способствует выживаемости последнего в кислых почвах, кроме дерново-луговой почвы, в которой существование азотобактера некоторое время поддерживается только фосфорными соединениями.

Лабораторными опытами установлено, что почти одна треть почвенных споровых и бесспоровых бактерий, выделенных из почв, где азотобактер отсутствовал, обладает антагонистическим действием против азотобактера.

Доклад Э. К. Африкяна был, посвящен вопросу «Взаимоотношения азотобактера и некоторых почвенных бактерий». Материалом исследований служило большое количество культур спорообразующих бактерий и различные виды азотобактера.

В результате проведенных исследований установлено, что среди аэробных спорообразующих бактерий почвы выраженными антагонистическими свойствами в отношении азотобактера обладают бактерии группы Bac. subtilis-mesentericus. У других групп спорообразующих бактерий, широко распространенных в почве, антагонистические свойства в отношении азотобактера отмечаются сравнительно редко.

Наличие антибиотического действия у бактерий группы subtilis-mesentericus на типичные штаммы Az. chroococcum может быть признано групповой качественной систематической характеристикой.

Антагонистическое действие бактерий группы subtilis-mesentericus на азотобактер отмечается в условиях стерильной и естественной почвы.

А. П. Петросян в своем докладе о «Влиянии измененных условий среды на эффективность экотипов клубеньковых бактерий» сообщила об испытании эффективности экотипов клубеньковых бактерий люцерны, клевера, эспарцета, вики и фасоли, которые выделены в различных почвенно-климатических условиях Армении. Исследо-

вания показали, что экотипы клубеньковых бактерий обладают в соответствующих экологических условиях большой активностью.

Например, клубеньковые бактерии люцерны, выделенные из бурой культурно-поливной почвы окрестности Еревана (низина), в условиях полевых опытов Еревана в первый год посева дали прибавку урожая в 30%, на второй год — 105%.

Этот же штамм в мартунинских горно-каштановых неполивных почвах снизил урожай на 4%. В условиях высокогорных неполивных черноземов Сисианского района тот же штамм повысил урожай всего на 4%.

Горный штамм клубеньковых бактерий люцерны, выделенный из почвы Мартуни, в условиях полевого опыта Еревана повысил урожай в первый год посева на 7%, на второй год — 22%. Этот же штамм в условиях Мартуни, т. е. на месте его выделения, увеличил урожай на 66,8%. В высокогорных местностях тот же штамм повысил урожай на 36,6%.

Такая же закономерность в повышении урожайности клевера отмечена и для экотипов клубеньковых бактерий клевера.

Результаты многолетних полевых опытов, заложенных на ряде бобовых растений в различных почвенно-климатических условиях, доказывают, что необходимо отказаться от практики применения стандартных штаммов клубеньковых бактерий в производстве нитрагина.

А. А. Меграбян выступила с докладом «О взаимоотношении клубеньковых бактерий с некоторыми почвенными бактериями».

Исследованиями автора выяснено, что ризосферные бактерии проявляют различное действие на клубеньковые бактерии и бобовые растения: одни из них являются активаторами, другие — антагонистами, а третьи не оказывают никакого действия на эффективность клубеньковых бактерий.

Количество активаторов и антагонистов в почве относительно и зависит от растительного покрова.

Почвенные и ризосферные бактерии — активаторы и антагонисты — проявляют свои свойства или в отношении одного вида бобового растения и соответствующих клубеньковых бактерий или нескольких видов клубеньковых бактерий и бобовых растений. По силе своего действия эти бактерии различны. При бактеризации семян бобовых растений смешанной культурой клубеньковых с антагонистами выяснилось, что клубеньковые бактерии при наличии антагонистов, хотя и несколько подавляются, все же увеличивают урожай, число и вес клубеньков по сравнению с контролем. Это обстоятельство докладчик объясняет недостаточной силой действия антагонистов на клубеньковые бактерии для окончательного подавления физиологических функций последних. В случае применения антагонистов в чистом виде урожай растений, количество и вес клубеньков, а также и накопление азотистых веществ в растении заметно снижаются.

При бактеризации семян клубеньковыми бактериями совместно с активаторами повышается урожай бобовых растений, увеличивается количество и вес клубеньков и накопление азотистых веществ в растении. Бактеризация семян только бактериями-активаторами также благоприятно сказывается на бобовых растениях, но в меньшей степени, чем в смешанной культуре с клубеньковыми бактериями.

Исходя из полученных данных, докладчик полагает, что в деле повышения эффективности нитрагина бактерии-активаторы могут играть большую роль.

С. А. Карагулян доложила результаты исследований по теме «Некоторые вопросы применения фосфоробактерина в Армении».

Трехлетние исследования автора показали, что на выщелоченных черноземах, которые богаты гумусом (4—6%), но содержат очень мало фосфора (валовая P_2O_5 составляет 0,6—0,8%, а легкорастворимая P_2O_5 — всего лишь 1,3 мг на 100 г почвы), действие фосфоробактерина выявляется слабо. В полевом опыте с озимой пшеницей была получена прибавка зерна около 1 ц/га от фосфоробактерина в случае, когда весной весь участок был удобрен суперфосфатом.

На выщелоченных черноземах другого района, которые содержат достаточное количество гумуса и фосфора, действие фосфоробактерина, в основном, положительное. В полевом опыте с озимой пшеницей было получено 2,7 ц/га прибавки зерна от фосфоробактерина.

Большой эффект от фосфоробактерина получился на темнокаштановой, черноземовидной почве опытного поля Ленинаканской гос. селекционной станции Арм. ССР. В полевом опыте с озимой пшеницей, который был заложен на паровом сильно удобренном суперфосфатом и компостами поле, прибавка урожая зерна от фосфоробактерина составила 4,0 ц/га.

Исследования докладчика показали, что значение фосфоробактерина не ограничивается его способностью минерализовать только органические вещества. Он имеет общее положительное действие на фосфорный режим почвы в смысле использования внесенных удобрений как минеральных, так и органических.

Фосфоробактерин значительно увеличивает количество нитратов в почве (от 0,7 до 12,0 мг на 100 г почвы). Эти факты говорят о том, что фосфоробактерин улучшает не только фосфорное, но и азотное питание растений.

О результатах испытаний азотобактерина и фосфоробактерина в условиях Сисианского района Арм. ССР доложил главный агроном первой МТС Сисианского

района Р. Н. Ходжаян. Докладчик отметил, что географическое расположение Сисианского района является причиной пестроты его почвенного покрова. Здесь можно встретить как бурые, культурно-поливные почвы, степные каштановые, так и горнолуговые черноземные. На основании проведенных опытов докладчик приходит к выводу, что азотобактерин эффективен в бурых культурно-поливных и каштановых почвах, где прибавка урожая зерновых культур составляет 2—3 ц/га. На черноземах азотобактерин не эффективен.

Фосфоробактерин не повышает урожая сельскохозяйственных культур на бурых и вообще бедных органическими веществами почвах, а на черноземах прибавка урожая зерновых от фосфоробактерина достигает 3 ц, картофеля — 16—20 ц с га.

Доклады, сделанные на сессии Сектора микробиологии, вызвали живой интерес аудитории. Многие из выступавших с удовлетворением отметили положительную работу, проведенную в области исследований и испытания бактериальных удобрительных препаратов. Одновременно было указано на неудовлетворительную организацию работ по внедрению в производство бактериальных удобрений на местах.

В резолюции, принятой сессией, обращается внимание научных работников на необходимость углубленного изучения обмена веществ азотобактера и клубеньковых бактерий и взаимоотношения этих бактерий с растением.

А. К. Паносян

СОВЕЩАНИЕ ПО ПРОИЗВОДСТВУ ФЕРМЕНТНЫХ ПРЕПАРАТОВ

4 и 5 апреля в Москве состоялось совещание по производству ферментных препаратов, организованное Техническим управлением Министерства промышленных продовольственных товаров СССР. На заседании было заслушано 13 докладов, сделанных представителями научно-исследовательских учреждений и заводов.

Во вступительном слове д-р техн. наук А. Л. Малченко отметил необходимость организации на заводах цехов по производству ферментных препаратов, в которых крайне нуждаются спиртовая, пивоваренная, хлебопекарная и другие отрасли промышленности.

Заведующая лабораторией ферментных препаратов Всесоюзного научно-исследовательского института спиртовой промышленности Р. В. Фениксова сделала доклад на тему «О получении ферментных препаратов и их применение в промышленности». Р. В. Фениксова указала на то, что поверхностные культуры грибов, выращенные на отрубях, являются одним из важнейших источников промышленного получения препаратов ферментов. Применяемый автором гриб Aspergillus orysae имеет несколько десятков ферментов, однако в промышленности применяются, в основном, амилолитические и протеолитические ферменты. Практика выращивания плесневых грибов на Серебряно-Прудском заводе показала, что грибы, выращенные на отрубях, обладают активным комплексом амилолитических ферментов, однако их протеолитические ферменты еще не достаточно активны. В дальнейшей работе необходимо изучить условия, способствующие повышению и протеолитического комплекса плесневых грибов. В связи с тем, что основные ферменты грибов растворимы в воде, возможно при производстве концентрированных препаратов их широко использовать диффузионный метод. Диффузионная вытяжка содержит не только ферменты, но и все другие растворимые вещества. При упаривании этих вытяжек получаются темноокрашенные сиропы, содержащие активные ферменты. Эти сиропы стойки при хранении, и получение их не трудно. Препараты ферментов в виде сиропов могут найти себе применение в хлебопекарной и кожевенной промышленности. В лабораторных условиях уже изучен процесс непрерывной очистки ферментных вытяжек от низкомолекулярных примесей посредством диализа через целлофан. В результате диализа из вытяжек удаляется 75% сахара и 65% сухих веществ. Активность ферментных препаратов при этом соответственно повышается. Вытяжка после диализа может быть упарена, из нее можно получить сухой и очищенный препарат ферментов.

Старший научный сотрудник Украинского научно-исследовательского института пищевой промышленности Е. Я. Калашников сделал доклад на тему «Производство амилолитических и протеолитических ферментных препаратов и применение их в пивоваренной промышленности». Докладчик указал, что основным недостатком при применении солода являются потери крахмала при проращивании зерна, составляющие около 12% от его сухого веса. Применение ферментных препаратов позволяет уже сейчас экономить зерно, предназначенное для солода. Заменяя 50% солода ферментными препаратами, завод экономит 6% от количества зерна, перерабатываемого в пивоваренной промышленности. Применение ферментных препаратов позволяет получить продукт с сохранением всех необходимых вкусовых и ароматических свойств.

При выращивании грибов в кюветах очень трудно поддерживать нужную температуру и влажность. Удаление тепла из кювет не должно сопровождаться высушиванием, так как это очень вредно отражается на росте грибов. Даже применение неочищенного препарата дало хорошие результаты. Для получения очищенного препарата оправдала себя следующая методика: ферментативный неочищенный препарат подвергается сильному увлажнению и отжиму в прессе. После нескольких повторений этой операции фермент полностью извлекается, а затем высушивается путем распыления раствора, со-

державшего фермент. Основным недостатком этого препарата является его сильная гигроскопичность. Поэтому применяются и другие методы: предварительное применение диализа, удаление сухих веществ, осаждение и высаливание.

Старший научный сотрудник Всесоюзного научно-исследовательского института спиртовой промышленности В. В. Вяткин доложил о результатах применения глубинной культуры плесневых грибов в спиртовом производстве. Докладчик указал, что в результате выращивания грибов в глубинной культуре были подобраны наиболее благоприятные условия, обеспечивающие хорошую активность грибных ферментов. Наиболее подходящим грибом для этого оказался Asp. niger. Эта культура грибов обладает амилазой, декстриназой и мальтазой. В качестве осахаривающего агента использовалась культуральная жидкость вместе с мицелием гриба. В результате опытов выявилось, что на очень кислых субстратах эти грибы не растут. Интересно, что образование ферментов, гидролизующих крахмал, не связано с наличием в среде крахмала. Однако активность ферментов зависит от состава среды, от длительности выращивания и от степени аэрации. Декстриназная активность в большей степени зависит от состава среды, чем амилолитическая активность.

Для амилолитической активности оптимальным значением pH является 5,5. Декстринолитическая активность меньше зависит от pH, чем амилолитическая активность, и декстриназа является достаточно активной при pH = 4,2. Введение в среду магния увеличивает активность декстриназы. Магний можно вводить в среду в виде чистого углекислого магния и в виде обожженного магнезита в концентрации 0,3%. При добавлении магния в среду активность ферментов настолько возрастает, что можно для осахаривания затора вводить не 20% культуры как обычно, а снизить ее количество до 10%. Применяемые грибы способны усваивать органические кислоты. Это позволяет выращивать грибы на спиртовых заводах на барде. Для лучшего развития гриба необходимо, чтобы барда содержала 5—5,5% сухих веществ. Поэтому в спиртовую барду нужно добавлять некоторое количество сухих веществ или ее упаривать. Добавление в барду 2% муки повышает ферментативную активность грибов. Картофельная мязга, являясь источником крахмала, также повышает активность ферментов. Интенсивная аэрация повышает ферментативную активность грибов, и для получения активной культуры требуется 1,6 л воздуха на 1 л глубинной культуры в час. Целесообразным является посев мицелием, так как для прорастания спор требуется значительный промежуток времени. В производстве часто наблюдалось инфицирование сбраживаемого затора и растянутость процесса брожения. Поэтому было испытано брожение при повышенной температуре при дображивании. В этом случае брожение в начальной стадии проводилось при 30°, а в конце брожения при 37°. Брожение в этих условиях протекало энергично и XII раса не требовала предварительного приучения. Выход спирта был высокий.

Все вышесказанное говорит в пользу того, что глубинная культура грибов должна быть внедрена на ряде заводов.

Д-р техн. наук В. Б. Фремель (ВНИИСП) сделал доклад на тему «Применение и внедрение глубинной культуры плесневых грибов в производство». Докладчик указал, что внедрение глубинной культуры плесневых грибов в спиртовое производство намечено на Гадовском заводе. Средой для выращивания грибов будет фильтрат барды с постоянной концентрацией сухих веществ (5—6%). Длительность брожения составит 64 часа.

Сотрудница Всесоюзного научно-исследовательского института хлебопекарной промышленности Р. Р. Токарева сообщила результаты работ по применению ферментов плесневых грибов в хлебопекарной промышленности. Докладчица указала, что в содружестве со Всесоюзным научно-исследовательским институтом спиртовой промышленности был разработан и опробован в производстве новый способ получения заварного хлеба при помощи ферментов плесневых грибов вместо красного ржаного солода. Необходимо организовать предприятия для выработки ферментативных препаратов для хлебопекарной промышленности.

Заведующий Лабораторией технологии безалкогольной промышленности Л. И. Чекан сделал доклад на тему «Пектиназа гриба Asp. niger и ее применение в производстве фруктовых соков». Для осветления натуральных соков были применены ферменты грибов Asp. oryzae и Asp. niger, которые дали хорошие результаты на Старорусском заводе и на других предприятиях. Опыты показали, что пектиназа грибов была наиболее активной при выращивании грибов на средах, содержащих 2% сахара и 2% пектина. При выращивании на отрубях также получается активная пектиназа. Путем обработки неочищенных ферментных препаратов, выпаривания под вакуумом и т. д. был получен препарат, активность которого в 30 раз выше первоначального препарата. Однако при применении неочищенных ферментов грибов нередко ощущался вкус плесени. Для производства необходим очищенный препарат, который можно было бы употреблять в виде порошка.

Главный инженер Серебряно-Прудского завода А. Г. Пахомов сообщил, что завод уже в течение четырех лет работает на грибных ферментах. Солода этот завод не имеет совсем. Грибы выращиваются и на отрубях. Результаты получаются не всегда одинаковые. Грибы требуют для своего роста 36°, но на заводе очень трудно поддерживать эту температуру. Применение формалина в качестве антисептика создает ряд трудностей, и этот вопрос нужно доработать.

Директор Московского хлебозавода им. Кагановича И. В. Родин указал, что на

этом заводе испытали замену солода грибными ферментами Asp. oryzae. Дегустация показала, что заварной хлеб, полученный на грибных ферментах, обладает хорошим вкусом и запахом. Директор Львовского пивоваренного завода Н. С. Кислицин высказался положительно в отношении применения грибных ферментов в пивоварении. Главный инженер пивоваренного завода «Новая Бавария» в Харькове П. Н. Пиленко указал, что этот завод является пионером в производстве ферментных препаратов, так как в 1952 г. уже был построен ферментный цех. Работа в основном проводилась с применением несоложенных препаратов. В 1954 г. выпустили пиво на ферментных препаратах. Инженер Укргипроводпроекта И. Я. Катеринин сделал доклад на тему «Проектирование промышленных цехов по выработке ферментных препаратов для пивоваренной промышленности». Д. И. Зарецкая (Роспромпроект) доложила о работе над проектом цеха ферментных препаратов для пивоваренного завода в Ростове-на-Дону.

На заседании 5 апреля выступали многие участники совещания. Большинство выступавших одобрительно отзывались о ферментных препаратах, указывая одновременно, что производство их крайне недостаточно. Главный инженер Московского треста спиртовой промышленности Л. П. Сотниченко указал, что замена дефицитного солода грибными ферментами весьма перспективна. Ферменты грибов Asp. oryzae и Rhizopus Delamar очень активны и их применение в спиртовой промышленности крайне желательно. Начальник Технического управления пищевой промышленности УССР П. М. Лысогор указал на то, что союзное министерство должно координировать научно-исследовательскую работу по ферментам, так как сейчас все работают в одиночку. Ферментные препараты нужно широко внедрять в производство. Например, на отходах хлебопекарного производства нужно получать мальтозные сиропы, которые могут заменить сахар. Для осветления соков также нужен ферментный препарат. Однако решение всех этих вопросов требует правильной организации этого дела. Проф. И. Я. Веселов (ВНИИПП) отметил ряд недочетов, все еще имеющих место. Мало применяются несоложенные материалы. Мало уделено внимания также применению бактериальных ферментов. Бактериальные ферменты нужны ряду отраслей промышленности, и нужно усилить работу по производству и применению этих ферментов. Многие участники совещания высказывались за организацию ферментной промышленности. Это позволит более широко производить и внедрять ферментные препараты, в которых отечественная промышленность крайне нуждается. И. С. Логоткин (МППТ СССР) указал на необходимость совместного применения ферментов грибов и солода, так как солод обеспечивает быстрое брожение, а ферменты грибов — более глубокое выбраживание. По всем обсужденным вопросам совещание вынесло постановление.

Л. И. Комарова

ЗАЩИТА ДИССЕРТАЦИЙ

В мае 1955 г. в Московском государственном университете им. М. В. Ломоносова состоялась защита диссертации Н. С. Веденяпиной на тему «Влияние азотобактера на рост дуба и микоризообразование» на соискание ученой степени кандидата биологических наук.

Автором проведены микробиологические исследования однолетних и вековых дубов. Эти исследования показали, что азотобактер является постоянным компонентом микрофлоры ризосферной почвы дуба. Вне ризосферы дуба его не всегда можно было обнаружить. В поймах азотобактера было больше, чем на водоразделах. Искусственное внесение азотобактера при посеве желудей показало, что азотобактер хорошо приживается в ризосфере дуба, давая 70—100% обрастания комочков. В микроделяночных опытах в питомниках было обнаружено положительное действие азотобактера на рост сеянцев дуба. В полевых опытах отмечалось положительное действие микоризных и бактериальных удобрений на рост сеянцев. Особенно хорошие результаты дал вариант смеси микоризной почвы с азотобактером. Этот вариант дал положительный эффект и в июле, когда микориза еще не образовалась, и в сентябре. Однако микоризная почва давала меньший эффект. Один азотобактер давал результаты лучше контроля, но хуже, чем микоризная почва + азотобактер. Азотобактер стимулировал микоризообразование уже в первый год вегетации, особенно в микропонижениях. В вариантах микоризная почва + азотобактер микориза образуется уже в августе.

Создание очага заражения, обогащенного азотобактером, очевидно, обеспечивает более раннее развитие микоризы, что дает сеянцам преимущества перед другими растениями. В микропонижениях сеянцы развиваются лучше. В вариантах, где было лучшее развитие микоризы в первом году, наблюдалось лучшее развитие сеянцев и в последующие годы. В низинах азотобактер действует даже лучше, чем микоризная почва.

На микроповышениях один азотобактер не мог обеспечить нужного режима, и здесь сеянцы мало превышали контроль. На вершинах микоризная почва действует эффективнее азотобактера. На третьем году вегетации отмечалось сильное влияние микрорельефа на рост дубков. Если на втором году наблюдался лишь плохой рост, то на третьем году наблюдалось отмирание дубков. На третьем году все дубки имели микоризу на своих корнях. Однако позднее образование микоризы не давало такого эффекта, который давали микоризы, образовавшиеся в первый год жизни дубков. Таким образом, в целях усиления роста дуба и сохранения молодых посадок от гибели необходимо проводить

микоризацию. Это необходимо делать, например, в условиях каштановых почв юго-востока. Наилучший результат при этом может быть достигнут при совместной бактеризации желудей азотобактером.

Автор высказывает предположение, что азотобактер может стимулировать развитие микоризного гриба образуемым им тиамином. При помощи выращивания Phycomyces nitens Kunze на среде Ридер было обнаружено наличие витамина B_1 в культуре азотобактера. Этот тест-микроб в контроле давал небольшой рост, а на среде с тиамином — хороший рост. Такой же хороший рост наблюдался в средах с убитыми клетками азотобактера. Опыты показали, что азотобактер может заменять тиамины на синтетических и на картофельных средах.

* * *

В мае в Московской ордена Ленина сельскохозяйственной академии им. К. А. Тимирязева Е. А. Федоров защитил диссертацию на соискание ученой степени кандидата биологических наук на тему «О роли гемоглобина в клубеньках корней бобовых растений».

Определение количества красного пигмента клубеньков производилось автором путем количественного хроматографического выделения пигмента из водной вытяжки клубеньков и последующего определения концентрации полученного раствора спектрофотометрическим способом. В качестве адсорбента использовалась окись алюминия. Пригодность адсорбента определялась по его способности адсорбировать животный гемоглобин, который ведет себя так же, как клубеньковый пигмент. В качестве элюата использовался полунасыщенный раствор сульфата аммония. Уже в прежних работах указывалось, что розовая окраска клубеньков является одним из критериев высокой эффективности клубеньковых бактерий. Этот говорит в пользу того, что гемоглобин принимает участие в процессе фиксации молекулярного азота. Опыты показали, что между урожаем растений, развитием клубеньков и содержанием гемоглобина нет корреляции. Разница в урожае и весе клубеньков варьировала сильно, содержание же гемоглобина менялось мало. Не было также связи между содержанием в клубеньках азота и содержанием в них гемоглобина. Все это позволяет сделать вывод, что клубеньковый гемоглобин не имеет прямого отношения к процессу фиксации азота. Опыты не подтвердили предположение Виртанена, что при прекращении фиксации азота происходит превращение гемоглобина в метгемоглобин. В условиях, при которых фиксация азота был невозможна, гемоглобин не разрушался. В ряде опытов даже наблюдалось увеличение его содержания в клубеньках. Исследование сока, отжатого из клубеньков, показало, что гемоглобин находится там в растворенном состоянии. Он обнаруживается в клеточном, межклеточном и плазменном соке. Концентрация гемоглобина является наибольшей в плазменном соке, однако большая его часть находится в клеточном и межклеточном соке. Структурные элементы клеток не содержат гемоглобина. Растворенный гемоглобин находится в тех клетках, в которых содержатся клубеньковые бактерии, но в клетках бактерий гемоглобина нет. Химические свойства клубенькового пигмента тождественны со свойствами гемоглобина крови — он так же, как и животный гемоглобин, способен связывать молекулярный кислород. Это позволяет предполагать, что клубеньковый гемоглобин играет роль в создании кислородного режима. Известно, что клубеньковые бактерии в искусственных условиях развиваются при низких концентрациях кислорода в среде. При росте же этих бактерий внутри клубенька клубеньковые бактерии одинаково энергично фиксируют азот при различных парциальных давлениях кислорода. На основании этого можно предполагать, что внутри клубеньков существует система, способная регулировать кислородный режим. Клубеньковые бактерии способны создавать очень высокие восстановительные условия. Подобные условия могут существовать только при низком парциальном давлении кислорода. При помощи системы гемоглобин $\rightleftarrows$ оксигемоглобин создаются такие кислородные условия, которые не исключают высокого восстановительного потенциала, благоприятного для деятельности клубеньковых бактерий, и происходит обеспечивание кислородом всех процессов, протекающих аэробно.

Дальнейшие опыты были проведены с желтым лупином, который выращивался в водных культурах. После того как клубеньки достигали значительных размеров, через питательный раствор пропускались газовые смеси с различным содержанием кислорода. Перед началом опыта в питательный раствор вносилось радиоактивное железо (Fe^{59}) в виде лимоннокислого железа. Количество железа, используемого на синтез гемоглобина, в процентах от поступающего в клубеньки, тем больше, чем выше концентрация кислорода в газовой струе, окружающей клубеньки. Следовательно, синтез гемоглобина пропорционален концентрации кислорода. Отсюда можно сделать заключение, что содержание гемоглобина в клубеньках является скорее функцией концентрации кислорода в среде, чем интенсивности фиксации азота.

Л. И. Комарова

МАРИЯ ПАВЛОВНА КОРСАКОВА

4 января 1955 г. скончалась Мария Павловна Корсакова, доктор биологических наук, крупный ученый в области биохимии и микробиологии почвы.

Мария Павловна Корсакова родилась в Петербурге в 1881 г. По окончании университета первые годы занималась преподаванием в школах. Свою научную деятельность Мария Павловна начала в 1908 г., работая на Высших женских курсах под руководством акад. В. И. Палладина. Первые работы были сделаны ею по ферментативным и окислительно-восстановительным процессам у дрожжей и других объектов. Высшими женскими курсами она была командирована в Париж, в Сорбонну, где работала у акад. Ж. Бонье в лаборатории в Фонтенебло.

В 1912 г. Мария Павловна начала самостоятельную работу по вопросам, связанным с превращением в растениях глюкозидов и некоторых других соединений, и начала вести педагогическую работу в высших учебных заведениях. В 1925—1932 гг. она состояла старшим ботаником в Лаборатории биохимии и физиологии растений АН СССР и вела работу по брожению и биохимии микроорганизмов.

С 1921 по 1935 г. она работала во Всесоюзном научно-исследовательском институте сельскохозяйственной микробиологии ВАСХНИЛ совместно с акад. С. П. Костычевым Будучи заместителем директора по научной части, Мария Павловна проводит исключительно большую работу по организации вновь формирующегося института: подбирает кадры, оборудует лаборатории, направляет всю научно-исследовательскую работу института.

При совместном руководстве Сергея Павловича Костычева и Марии Павловны Корсаковой в институте в течение 6 лет проводилась широкая работа по систематическому исследованию почв, давшая первое ясное представление о микробиологической и биохимической характеристике основных типов почв СССР.

Будучи разносторонне эрудированным и инициативным ученым, Мария Павловна провела целый ряд важных исследований по агрономической микробиологии и биохимии: по микробиологии органических удобрений, по изучению азотфиксирующих микроорганизмов, по изучению разложения органических веществ — и значительно способствовала широкому внедрению в практику сельского хозяйства нитрагина — эффективного бактериального удобрения.

Двадцатилетние исследования М. П. Корсаковой по вопросу химизма процессов восстановления нитратов признаны классическими, их результаты вошли во все учебные руководства по биохимии и микробиологии и нашли достаточное отражение в иностранной литературе. Эти работы в последующее время послужили Корсаковой для блестящей защиты докторской диссертации.

В 1935 г. Мария Павловна Корсакова переехала в Вологду, где в Вологодском институте эпидемиологии и микробиологии занималась изучением влияния производственных загрязнений на режим рек, а также выделением и систематизацией бактериофагов — в основном дизентерийных.

В годы войны Мария Павловна руководила производственной лабораторией бактериофага и довела до максимальных размеров изготовление биопрепаратов, применяемых как среди населения, так и в частях Советской Армии.

Необходимо также отметить большую педагогическую деятельность Марии Павловны, подготовившей в университете и в научных учреждениях Академии наук СССР и Всесоюзной академии сельскохозяйственных наук им. В. И. Ленина целый ряд научных работников, в настоящее время продолжающих разрабатывать вопросы в области микробиологии и биохимии, имеющие важное значение в народном хозяйстве.

В лице Марии Павловны Корсаковой советская наука потеряла широко эрудированного и преданного науке и интересам страны ученого.

Ее ученики и товарищи по работе навсегда сохранят самые лучшие воспоминания о Марии Павловне, как о прекрасном руководителе и безукоризненно честном и отзывчивом человеке.

В. Береснева, В. Былинкина, Л. Доросинский, Н. Лазарев, Г. Лопатина

АЛЕКСАНДРА АЛЕКСЕЕВНА БАЧИНСКАЯ

13 февраля 1955 г. в Ленинграде скончалась доктор биологических наук, профессор Александра Алексеевна Бачинская.

А. А. Бачинская родилась в Полтаве в 1878 г. Александра Алексеевна принадлежала к небольшому числу тех русских женщин, которым удалось преодолеть все тяжелые преграды, существовавшие для женщин в дореволюционной России, и получить высшее образование. В 1906 г. Александра Алексеевна окончила с отличием Женский медицинский институт. С 1907 по 1933 г. она работала в этом же институте, переименованном после Октябрьской революции в I Ленинградский медицинский институт, ассистентом и и старшим преподавателем кафедры ботаники и общей микробиологии. С первых дней организации в Академии наук СССР Микробиологической лаборатории в 1930 г. (реор-

ганизованной впоследствии в Институт микробиологии АН СССР) А. А. Бачинская приглашается на работу в эту лабораторию в качестве ученого специалиста.

В Академии наук Александра Алексеевна работала до 1934 г. — до перевода Микробиологической лаборатории из Ленинграда в Москву.

С 1934 по 1950 г. Александра Алексеевна работала ассистентом и доцентом кафедры общей и технической микробиологии Ленинградского химико-фармацевтического института. С 1934 г. она по совместительству занимала должность старшего научного сотрудника, а затем профессора Ленинградского кожно-венерологического института.

Некоторое время А. А. Бачинская состояла также старшим микробиологом Института сельскохозяйственной микробиологии ВАСХНИЛ.

А. А. Бачинская свою научно-исследовательскую работу начала, еще будучи студенткой, под руководством акад. В. Л. Комарова, затем ряд лет работала под руководством и в сотрудничестве с акад. Г. А. Надсоном. Перу А. А. Бачинской принадлежит около 56 работ, посвященных разнообразным вопросам общей микробиологии, морфологии, истории развития бактерий, водорослей, дрожжей, дрожжеподобных организмов и других грибов.

А. А. Бачинская является автором ценных и оригинальных работ по истории развития, строению и биологическим особенностям азотобактера, уксуснокислых, молочнокислых бактерий, дрожжей, грибов и других микроорганизмов. Она впервые провела микробиологическое исследование так называемого чайного гриба и показала, что он представляет собой симбиоз уксуснокислых бактерий и дрожжей; значительные исследования проведены ею по изучению микробиологии кефира и кумыса.

А. А. Бачинская автор большого числа ценных работ, посвященных всестороннему изучению патогенных дрожжеподобных грибов, и в этой области медицинской микробиологии она была одним из крупнейших и авторитетных ученых нашего Союза.

А. А. Бачинской принадлежит честь открытия и описания ряда новых видов дрожжей и дрожжеподобных грибов (Sacch. paradoxus, Sacch. lipophora, Debaryomyces, Endomyces ascosporus и др.).

Чутко отзываясь на запросы жизни, Александра Алексеевна вела большую работу в области популяризации научных знаний, и ее перу принадлежит ряд научно-популярных брошюр по вопросам пищевой микробиологии, написанных на высоком уровне, со знанием вопроса и в то же время так живо и доступно, что все они читаются с большим интересом.

Кроме разносторонней научно-исследовательской работы, А. А. Бачинская в течение почти полувека вела обширную педагогическую деятельность.

Тысячи врачей и фармацевтов своими познаниями в области микробиологии обязаны А. А. Бачинской.

Будучи высокообразованным биологом и всесторонне эрудированным микробиологом, Александра Алексеевна охотно делилась своими знаниями, с большой любовью относилась к молодым специалистам и вместе с ними переживала их радости и огорчения.

Под руководством А. А. Бачинской учились многие десятки аспирантов: ряд крупных микробиологов нашей страны являются ее учениками.

А. А. Бачинская принадлежала к той категории ученых, которые всю свою жизнь целиком отдают науке и подготовке кадров.

За свою бескорыстную преданность науке, заботливое отношение к молодежи за активное участие в общественной жизни, за свою доброту Александра Алексеевна пользовалась заслуженной любовью всех, кто с ней сталкивался по работе и в жизни.

Светлый образ А. А. Бачинской всегда будет жить в сердцах ее многочисленных учеников и сослуживцев.

А. Имшенецкий, П. Кашкин, А. Конокотина, Н. Красильников, А. Крисс, В. Кудрявцев, М. Литвинов, М. Мейсель, Я. Раутенштейн

БИБЛИОГРАФИЯ *

I. ОБЩАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ

а) Общие работы, морфология, биология и систематика

Айрапетян В. Г. О направлении измечивости бактерий из группы Пастерелла. ДАН Арм. ССР, 1954, т. 19, № 1, стр. 23—27. Резюме на арм. яз.

Александров В. Г. Силикатные бактерии. Сб. «Роль микроорганизмов в питании растений», М., Изд-во ВАСХНИЛ, 1953, стр. 96—102.

Алексеев В. А. Культивирование Bacillus felsineus в условиях анаэробного поверхностного роста. Мікробіол. журн., 1953, т. 15, вып. 4, стр. 40—44. На укр. яз. Резюме на рус. яз.

Алиханьян С. И. и Миндлина С. З. Селекция активных штаммов продуцентов антибиотиков. Антибиотики, 1954, вып. 6/44, стр. 3—13.

Африкян Э. К. Итоги работ по микробиологии. Изв. АН Арм. ССР, 1953, т. VI, № 12, стр. 35—54.

Беляева М. И. Распространение водородных бактерий в природе. Уч. зап. Казан. ун-та, 1954, т. 114, кн. 8, стр. 229—256.

Богачов А. А. Новые местные расы дрожжей. Садоводство, виноградарство и виноделие, 1954, № 4, стр. 48—51.

Буров А. Д. Выделение ацидофильных бактерий у пушных зверей. Труды Моск. пушно-мехового ин-та, 1954, т. 5, стр. 324—328.

Визир П. Е., Пасечник А. М. и Шур-Шультц В. Н. Изменчивость микроорганизмов под влиянием ассимиляции микробных продуктов. Сообщ. II. Биологическая характеристика паратифоподобных вариантов. Мікробіол. журн., 1953, т. 15, вып. 4, стр. 3—13. На укр. яз. Резюме на рус. яз.

Візір П. Э. Теоретичні основи вивчення мінливості мікроорганізмів. Вісн. АН Укр.РСР, 1954, № 11, стр. 22—33.

Гришин С. И. Действие температурного фактора на некоторые типы дизентерийного бактериофага. Вопросы краевой патологии, Ташкент, 1954, вып. 4, стр. 46—53.

Гусева К. А. О двух планктонных микроорганизмах, принимающих участие в круговороте железа. Третья экологическая конференция Киев. гос. ун-та. Тезисы докладов, ч. II, 1954, стр. 39—40.

Демиховская А. А. Антагонистические взаимоотношения между уробактериями и некоторыми другими микроорганизмами. Мікробіол. журн., 1954, т. 16, вып. 1, стр. 54—57. На укр. яз. Резюме на рус. яз.

Елин В. Л. Изменчивость микробов, М., Медгиз, 1954, 212 стр.

Еремеев М. Н. К вопросу о направленном изменении иммуногенных свойств бруцелл. Сб. науч. работ Сиб. зонального н.-иссл. вет. ин-та, 1954, вып. 5, стр. 77—86.

Ермольева З. В. Николай Федорович Гамалея. (К 95-летию со дня рождения и 5-летию со дня смерти.) Клин. медицина, 1954, т. 32, № 7, стр. 82—87.

Ерышканова А. А. К вопросу об изменчивости бруцелл. Ветеринария, 1954, № 6, стр. 24—28.

Заседание памяти академика Б. Л. Исаченко. Вестн. АН СССР, 1954, № 1, стр. 108—109.

Иванов М., Бабич М., Терентьев Ф. и Сюрин В. О практической ценности «открытий» Г. М. Бошьяна. (По поводу книги Г. М. Бошьяна «О природе вирусов и микробов».) Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол., 1954, № 11, стр. 115—120.

Иерусалимский Н. Д. и Мишустин Е. Н. Итоги Римского конгресса микробиологов, сент. 1953 г. Усп. совр. биологии, 1954, т. 37, вып. 1, стр. 127—132.

Ильенко В. И., Кривиский А. С. и Юрикас И. А. О возможности перехода вирусов в микробные формы. Новости медицины, 1953, вып. 38, стр. 13—19.

Имшенецкий А. А. Изменчивость и селекция микроорганизмов. Природа, 1954, № 5, стр. 35—44.

Использование меченых атомов в микробиологии. (Совещание в Ин-те микробиологии АН СССР, ноябрь 1953 г.) Вестн. АН СССР, 1954, № 3, стр. 80—83.

Калина Г. П. Развитие микробных клеток из доклеточного вещества, Киев, Госмедиздат УССР, 1954, 475 стр.

* Составлена сотрудниками библиотеки Отделения биологических наук АН СССР под руководством доктора биологических наук Т. К. Лепина.

Кантор Д. И. Об эффективности ультразвуковых волн как обеззараживающего средства. Гигиена и санитария, 1954, № 4, стр. 10—13.
Карасева В. Т. Электронная микроскопия изменений туберкулезной палочки, наступающих под влиянием фтивазида. Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол., 1954, № 7, стр. 72—74.
Кашаева А. А., Ольштейн С. Е. и Либинзон А. Е. Регенерация фильтрующихся форм различных бактерий. Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол., 1954, № 8, стр. 79—84.
Кирова К. А. Флоуресцентно-микроскопический анализ термоустойчивых штаммов дрожжей. Труды Киев. технол. ин-та пищевой промышленности, 1953, вып. 13, стр. 107—110.
Кирхенштейн А. М. Морфология микробов и механизм действия антибиотиков. Научная сессия по вопросам биологии и сельского хозяйства, Рига, 22—26 октября 1951 г., М., Изд-во АН СССР, 1953, стр. 8—15.
Кирхенштейн А. М. Морфология микробов и механизм действия антибиотиков. Труды Ин-та микробиологии АН Латв. ССР, 1953, вып. 2, стр. 3—12.
Кирхенштейн А. М. Проблемы микробиологии и иммунобиологии. Избр. труды. М., Изд-во АН СССР, 1954, 212 стр.
Клейн Б. И. Природа бактериофага. Наука и жизнь, 1954, № 3, стр. 20—21.
Коленько Е. Микробы — невидимые друзья и враги человека, Челябинск, Кн. изд-во, 1953, 72 стр.
Конский В. Н. Микробы и вирусы. Рассказ о книгах. Науч. ред. канд. мед. наук Д. С. Щастного, Одесса, Обл. изд-во, 1954, 44 стр.
Косиков К. В. Генетика дрожжей и методы селекции дрожжевых культур, М., Изд-во АН СССР, 1954, 328 стр.
Красильников Н. А. О неклеточных формах у микроорганизмов. Усп. совр. биологии, 1954, т. 37, вып. 1, стр. 22—32.
Кривиский А. С. О взаимодействии бактериофага и бактерий. Новости медицины, 1953, вып. 38, стр. 20—32.
Кривошеева С. З. Изменение свойств возбудителя брюшного тифа под влиянием бактериофага. Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол., 1954, № 2, стр. 3—7.
Кудлай Д. Г. Изменчивость микробов кишечной группы, М., Медгиз, 1954, 192 стр.
Кудлай Д. Г. Роль щелочеобразователей в видообразующей изменчивости бактерий кишечной группы. Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол., 1954, № 6, стр. 32—38.
Кудрявцев В. И. Об улучшении существующих производственных рас дрожжей и о выделении из них новых форм. Вопросы микробиологии в производстве шампанского, Мин-во промышл. прод. товаров СССР, 1953, стр. 13—27.
Кудрявцев В. И. Систематика дрожжей, М., Изд-во АН СССР, 1954, 428 стр.
Левшина О. Н. Микробы — невидимые враги и друзья человека. Рекоменд. список литературы, М., ЦПБ, 1954, 10 стр.
Леонов Н. И. Неверные сообщения. О книге С. Н. Муромцева «Изменчивость микроорганизмов и проблемы иммунитета». Сельхозгиз, 1953, 237 стр. Ветеринария, 1954, № 8, стр. 53—57.
Литвинов М. А. Рецензия на книгу: *А. А. Имшенецкий*, Микробиология целлюлозы, М., Изд-во АН СССР, 1953. Природа, 1954, № 8, стр. 124—126.
Литвинов М. А. и Нюкша Ю. П. Рецензия на книгу: *А. А. Имшенецкий.* Микробиология целлюлозы, М., Изд-во АН СССР, 1953, Журн. общ. биологии, 1954, т. 15, № 5, стр. 397—400.
Марго А. А. Морфологические и культуральные свойства гладких и шероховатых вариантов Azotobacter chroococcum. Труды Белорус. с.-х. акад., 1953, т. 19, стр. 108—117.
Медвинская Л. Ю. Типы бактериофага молочнокислых стрептококков. Второе сообщение. Чистые типы бактериофага Str. lactis и их свойства. Мікробіол. журн., 1954, т. 16, вып. 4, стр. 58—63. На укр. яз. Резюме на рус. яз.
Медвинская Л. Ю. и Новикова С. И. Серологические свойства вторичных фагорезистентных культур Str. lactis. Мікробіол. журн., 1954, т. 16, вып. 1, стр. 48—53. На укр. яз. Резюме на рус. яз.
Медвинская Л. Ю. и Новикова С. И. Типы бактериофага молочнокислых стрептококков. Первое сообщение. Получение типов молочнокислых стрептококков и характеристика их. Мікробіол. журн., 1954, т. 16, вып. 4, стр. 57—62. На укр. яз. Резюме на рус. яз.
Меликова Е. Н. О фильтрующихся формах микробов. Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол., 1954, № 10, стр. 12—18.
Мехтиева В. Л. Выделение чистой культуры Nitrosomonas europaea. ДАН СССР, 1954, т. 96, № 2, стр. 379—381.
Миленушкин Ю. И. Николай Федорович Гамалея. Очерк жизни и науч. деятельности, М., Изд-во АН СССР, 1954, 160 стр.
Мишустин Е. Н. и Иерусалимский Н. Д. На Международном конгрессе микробиологов в Риме, сент. 1953 г. (Из впечатлений участников конгресса.) Природа, 1954, № 4, стр. 64—68.

Муромцев С. Н. Изменчивость микроорганизмов и проблемы иммунитета, М., Сельхозгиз, 1953, 260 стр.
Муромцев С. Н. О видообразовании у микробов. Журн. общ. биологии, 1954, т. 15, № 2, стр. 144—156.
Норкина С. П. Изыскание рациональных способов высушивания культур азотобактера. Тр. Всес. н.-иссл. ин-та с.-х. микробиологии, 1953, т. XIII, стр. 131—140.
Одинцова Е. Н. Производственные свойства рас шампанских дрожжей и пути их селекции. Вопросы микробиологии в производстве шампанского, Мин-во промышл. прод. товаров СССР, 1953, стр. 54—78.
Орехович В. Н. Некоторые итоги дискуссии по поводу представлений Г. М. Бошьяна. (К итогам дискуссии по книге Г. М. Бошьяна «О природе вирусов в микробиологии».) Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол., 1954, № 10, стр. 102—107.
Орлов В. А. К проблеме видообразующей изменчивости микроорганизмов. Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол., 1954, № 10, стр. 31—37.
Паносян А. К. Изменчивость микроорганизмов, их направленное воспитание и взаимоотношение. Изв. АН Арм.ССР, Биол. и с.-х. науки, 1954, т. 7, № 8, стр. 3—13. Резюме на арм. яз.
Перфильев Б. В. Новый биологический тип бактерий с хищным способом питания. ДАН СССР, 1954, т. 98, № 5, стр. 845—848.
Поманская Л. А. Новый штамм B. zopfii — активный кристаллообразователь. Бюлл. эксперим. биологии и медицины, 1954, т. 38, № 7, стр. 55—59.
Попхристов П. Новое достижение болгарских микробиологов. Об антибиотических свойствах нормальной микробной флоры полости рта и кожи у человека. Природа, 1954, № 12, стр. 78.
Программа по микробиологии. (Для агр. специальностей с.-х. вузов.) Утв. в мае 1954 г., М., 1954, 11 стр. В конце текста авт.: М. В. Федоров.
Программа по микробиологии. (Для зоотехн. вузов и фак.) Утв. Упр. с.-х. вузов в 1954 г., М., 1954, 8 стр.
Раскатов П. Б. Физиология растений с основами микробиологии. Уч. пособие для лесотехн. и лесохоз. высш. учебн. заведений, М., «Сов. наука», 1954, 376 стр.
Рогозин И. И. Научная сессия по проблемам общей вирусологии. Военно-мед. журн., 1954, № 1, стр. 87—88.
Рубенчик Л. И. С. Н. Виноградский. Мікробіол. журн., 1953, т. 15, вып. 4, стр. 73—74. На укр. яз.
Рубенчик Л. И. Вклад ученых Украины в развитие микробиологии. Природа, 1954, № 11, стр. 85—88.
Рубенчик Л. И. Труды ученых Украины по общей и почвенной микробиологии. Мікробіол. журн., 1954, т. 16, вып. 1, стр. 6—10. На укр. яз. Резюме на рус. яз.
Рыжков В. Л. Систематика вирусов и ее значение для сельского хозяйства. (Доклад на годичном собрании Всес. бот. об-ва 25 мая 1954 г.) Бот. журн., 1954, т. 39, № 6, стр. 797—808.
Саенко Н. Ф. Методы и результаты работы по направленному воспитанию дрожжей. Науч. сессия, посвящ. 125-летию первых эксперим. насаждений винограда в «Магараче», 1954, стр. 136—137.
Сергеев Г. М. Исследование влияния биостимуляторов на рост бактериальных культур. Сообщ. 2. Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол., 1954, № 12, стр. 81—82.
Силищенская О. М. Синергизм молочнокислых бактерий. Тр. Всес. н.-иссл. ин-та спирт. промышл., 1954, вып. 3, стр. 168—176.
Смирнова А. П. и Беккер З. Э. Возрастные изменения гриба Aspergillus niger при глубинном выращивании. Тр. Всес. н.-иссл. ин-та спирт. промышл., 1954, вып. 3, стр. 82—98. При участии Н. П. Запрудновой.
Смородинцев А. А. и Кривицкий А. С. Актуальные вопросы изменчивости вирусов. Новости медицины, 1953, вып. 38, стр. 1—13.
Столыгво Н. С. Об изменениях свойств туберкулезных микобактерий в процессе развития их из фильтрующихся элементов. Изв. АН Латв. ССР, 1954, № 12, стр. 67—78.
Труды по вопросам микробиологии (опубликованные в «Изв. АН Латв. ССР» за 1947—1950 гг.), I, Рига, Изд-во АН Латв. ССР, Ин-т микробиологии.
Тыдельская И. Л. Экспериментальный эндокардит у кроликов и образование фильтрующихся форм стрептококков в организме. Мікробіол. журн., 1954, т. 16, вып. 4, стр. 88.
Улендеев А. И. Об антагонизме ацидофольных бактерий. Сб. науч. трудов Иван. с.-х. ин-та, 1954, вып. 12, стр. 231—236.
Холодный Н. Г. Железобактерии. Отв. ред. А. А. Имшенецкий, М., Изд-во АН СССР, 1953, 224 стр.
Цыро А. И. Изучение изменчивости некоторых видов микробов. Труды Омск. вет. ин-та 1954, т. 14, стр. 3—9.
Черник Т. П. О свойствах Bact. radiobacter. Труды Всес. н.-иссл. ин-та с.-х. микробиологии, 1953, т. XIII, стр. 74—86.
Шакарян Г. А. и Даниелова Л. Т. Морфологические и физиологические изменения различных видов бактерий под влиянием бактериоцидина. Труды Ереван. зоовет. ин-та, 1953, вып. 15, стр. 83—99.

Шугар Д. и Барановская И. Исследования по грам-окраске: переход нативного грамотрицательного организма в грамположительный. Бюлл. Польской Акад. наук, 1954, т. 2, вып. 1, стр. 3—8.

Шумаков А. М. Влияние азотистых веществ на форму дрожжевых клеток. Науч. сессия, посвящ. 125-летию первых эксперим. насаждений винограда в «Магарач», 1954, стр. 142.

б) Биохимия и физиология

Айзенман Б. Е. Некоторые черты физиологии питания брюшнотифозной палочки. Сообщ. II. Образование тифозной палочкой тиамина и биотина. Мікробіол. журн., 1953, вып. 4, стр. 20—25. На укр. яз. Резюме на рус. яз.

Белозерский А. Н., Знаменская М. П., Раутенштейн Я. И., Пронякова Г. В. и Родионова Н. А. Сравнительное биохимическое изучение чувствительных и устойчивых к актинофагам форм Actinomyces globisporus streptomycini Kras. Биохимия, 1954, т. 19, вып. 2, стр. 236—245, с табл.

Беляева М. И. Образование метана из водорода и углекислого газа культурами Pseudomonas pantotropha и Bacillus hydrogenes. Уч. зап. Казан. ун-та, 1954, т. 114, кн. 1, стр. 19—22.

Беляева М. И. Усвоение молекулярного азота водородными бактериями. Уч. зап. Казан. ун-та, 1954, т. 114, кн. 1, стр. 13—18.

Беляева М. И. Химизм усвоения углекислого газа и роль фосфатов при автотрофной ассимиляции углерода водородными бактериями. Уч. зап. Казан. ун-та, 1954, т. 114, кн. 1, стр. 3—12.

Билай В. И., Силакова А. И. и Харкевич Е. К характеристике азотистых веществ плесневых грибов при использовании ими аммиачного и нитратного азота. Мікробіол. журн., 1954, т. 16, вып. 1, стр. 20—26. На укр. яз. Резюме на рус. яз.

Бобченко Е. С. Стафилококки, естественно устойчивые к пенициллину. Сообщ. V. Диффузный фактор и гиалуронидаза. Мікробіол. журн., 1954, т. 16, вып. 2, стр. 44—46. На укр. яз. Резюме на рус. яз.

Вышепан Е. Д. О содержании *d*-аминокислот в грамидине С и в телах некоторых почвенных споровых бактерий. Биохимия, 1954, т. 19, вып. 4, стр. 490—494.

Вышепан Е. Д. и Краснова Т. В. О роли протеолитических ферментов Bac. perfringens (тип. А) в инактивации образуемого этими бактериями *α*-токсина (лецитиназы С). Биохимия, 1954, т. 19, вып. 2, стр. 202—207.

Галкина Т. А. Нуклеазы кишечной палочки и их изменения при выращивании ее на средах с автолизатами В. Breslay. Мікробіол. журн., 1954, т. 16, вып. 2, стр. 25—30. На укр. яз. Резюме на рус. яз.

Гальцова Р. Д., Мейсель М. Н. и Селиверстова Л. А. Изменение в стериновом обмене дрожжевых организмов под влиянием рентгеновских лучей. ДАН СССР, 1954, стр. 1013—1016.

Голышева М. Г. и Либер Л. И. Метод адаптации уксуснокислых бактерий A. melanogenum и A. suboxydans к повышенным концентрациям сорбита. Труды Всес. н.-иссл. витаминного ин-та, 1953, т. 4, стр. 79—83.

Гуляев В. В. К видовому составу грибных болезней защитных лесонасаждений Татарской АССР. Труды по лесному хозяйству (Казань), 1954, вып. II, стр. 95—128.

Диканская Э. М. Образование рибофлавина микроскопическим грибом Eremothecium ashbyii. Труды Ин-та микробиологии АН СССР, 1954, вып. 3, стр. 35—67.

Димич М. С. Влияние бактериоцидина на активность бактериофага. Труды Ереван. зоовет. ин-та, 1953, вып. 15, стр. 121—124.

Знаменская М. П., Демяновская Н. С. и Белозерский А. Н. О некоторых свойствах дезоксирибонуклеиновой кислоты из объектов различного происхождения. ДАН СССР, 1953, т. 93, № 1, стр. 119—122.

Иванов В. И. и Лобанова А. В. Гексокиназа Bac. perfringens и некоторые ее свойства. Биохимия, 1954, т. 19, вып. 3, стр. 257—260.

Имшенецкий А. А. и Рубан Е. Л. О химизме нитрификации. ДАН СССР, 1954, т. 95, № 1, стр. 175—178.

Калашникова Е. Я., Лифшиц Д. Б., Левинтан Б. М. и Трайнина Т. И. Влияние условий выращивания на образование амилолитических и протеолитических ферментов плесневым грибом Aspergillus oryzae. Труды Укр. н.-иссл. ин-та пищ. промышл., 1954, вып. 1, стр. 3—12.

Калашникова Е. Я., Лифшиц Д. Б., Левинтан Б. М. и Трайнина Т. И. Динамика образования амилолитических ферментов в культурах плесневого гриба Aspergillus oryzae. Труды Укр. н.-иссл. ин-та пищ. промышл., 1954, вып. 1, стр. 13—17.

Карасевич Ю. Н. О росте складчатой и гладкой форм Saccharomyces cerevisiae в аэробных и анаэробных условиях. Труды Ин-та микробиологии АН СССР, 1954, вып. 3, стр. 68—72.

Колчинская И. Д. Изучение протеолитических свойств Cl. acetobutylicum в динамике брожения. Мікробіол. журн., 1953, т. 15, вып. 4, стр. 35—39. На укр. яз. Резюме на рус. яз.

Колчинская И. Д. Потребление железа клетками Cl. acetobutylicum. Мікробіол. журн., 1954, т. 16, вып. 1, стр. 41—47. На укр. яз. Резюме на рус. яз.

Лазарева Е. Н. и Равич Б. В. О механизме устойчивости к пенициллину кислотоустойчивых микробов, образующих пенициллиназу. Труды Всес. н.-иссл. ин-та антибиотиков, 1953, вып. 1, стр. 124—131.

Лившиц М. И. и Либер Л. И. Изыскание условий, способствующих образованию эргостерина в дрожжах в процессе их культивирования. Труды Всес. н.-иссл. витаминного ин-та, 1953, т. 4, стр. 62—65.

Лубенец Е. К. Комплексные соединения липидов в клетках дифтерийных бактерий. Биохимия, 1954, т. 19, вып. 1, стр. 11—15.

Любимов В. И. и Каган З. С. Уреаза и аргиназа у некоторых видов Azotobacter. ДАН СССР, 1954, т. 99, № 5, стр. 845—848.

Малченко А. Л., Криштул Ф. Б., Скирстымонский А. И. Фосфорное питание дрожжей при сбраживании патоки на спирт, М., Пищепромиздат, 1954, 36 стр.

Михлин Э. Д. и Голышева М. Г. Влияние метода холодной стерилизации питательной среды на биохимическую активность бактерий A. melanogenum и грибка Eremothecium Aschbyii. Труды Всес. н.-иссл. витаминного ин-та, 1953, т. 4, стр. 83—87.

Михлин Э. Д. и Голышева М. Г. Влияние метиленовой сини на окисление сорбита в сорбозу бактериями Acetobacter melanogenum. Биохимия, 1954, т. 19, вып. 5, стр. 549—556.

Окислительно-восстановительные процессы у микроорганизмов. (Конференция в Ин-те микробиологии АН СССР.) Вестн. АН СССР, 1954, № 8, стр. 97—98.

Опарин А. И., Бардинская М. С. и Эльпинер И. Е. Действие ультразвуковых волн на дрожжевую инвертазу. ДАН СССР, 1954, т. 99, № 3, стр. 423—426.

Опарин А. И., Гельман Н. С. и Жукова И. Г. Влияние питательной среды на углеводный состав дрожжей и их ферментативную активность. ДАН СССР, 1954, т. 99, № 4, стр. 593—596.

Опарин А. И., Гельман Н. С. и Эльпинер И. Е. Изучение локализации ферментов в клетках Endomyces magnussii при помощи ультразвуковых волн. ДАН СССР, 1954, т. 96, № 3, стр. 573—576.

Опарин А. И., Гельман Н. С. и Эльпинер И. Е. Обнаружение инвертазы у Saccharomyces globosus 349 при помощи ультразвуковых волн. ДАН СССР, 1954, т. 97, № 2, стр. 293—295.

Орлова О. К. Углеводы дифтерийных бактерий. Биохимия, 1953, т. 18, вып. 6, стр. 683—687.

Орлова О. К. Углеводы дифтерийных бактерий. Биохимия, 1954, т. 19, вып. 4, стр. 449—452.

Петров Д. Ф. и Слюсарь Н. Г. Линия Bacterium coli, требующая витамина B_{12}. ДАН СССР, 1954, т. 95, № 2, стр. 393—394.

Пономарев К. А. О закономерностях размножения Cl. perfringens в смешанных культурах. Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол., 1954, № 3, стр. 46—50.

Попова Е. М. Ферменты грибка Ботритис цинереа. Науч. сессия, посвящ. 125-летию первых эксперим. насаждений винограда в «Магараче», 1954, стр. 104—105.

Равич Б. В. и Лазарева Е. Н. Пенициллиназа кислотоустойчивых микробов. Труды Всес. н.-иссл. ин-та антибиотиков, 1953, вып. 1, стр. 131—140.

Рашба Е. Я. Нуклеопротеиды бреславльской палочки. Мікробіол. журн., 1954, т. 16, вып. 3, стр. 43—48. На укр. яз. Резюме на рус. яз.

Рашба Е. Я. и Галкина Т. А. Нуклеиновые кислоты кишечной палочки и их изменения при направленной изменчивости этой палочки. Мікробіол. журн., 1954, т. 16, вып. 1, стр. 27—33. На укр. яз. Резюме на рус. яз.

Рашба Е. Я. и Крачко Л. С. Активность дезаминаз пуринов и рибонуклеиновой кислоты у вариантов Bact. coli, выращенных на автолизатах Bact. Breslau. Мікробіол. журн., 1954, т. 16, вып. 1, стр. 34—40. На укр. яз. Резюме на рус. яз.

Романкова А. Г. Влияние температуры и влажности на развитие грибов рода Penicillium. Вестн. Ленингр. ун-та, 1954, № 7 ,стр. 41—48.

Романкова А. Г. О разложении жира грибами рода Penicillium. Вестн. Ленингр. ун-та, 1954, № 4, стр. 59—64.

Романкова А. Г. и Кобрина Ю. П. Влияние спектрального состава света на грибы рода Penicillium. Вестн. Ленингр. ун-та, 1954, № 7, стр. 49—53.

Рубин Б. А. и Обручева Н. В. Ферментные системы микоризных грибов. ДАН СССР, 1954, т. 95, № 2, стр. 337—340.

Рыжков В. Л., Кабачник М. И., Тарасевич Л. М. и др. Биологическая активность α-аминофосфиновых кислот. ДАН СССР, 1954, т. 98, № 5, стр. 849—852.

Смалий В. Т. Образование гетероауксина в ассоциативных культурах азотобактера Мікробіол. журн., 1954, т. 16, вып. 4, стр. 32—39. На укр. яз. Резюме на рус. яз.

Смирнова А. Э. Дрожжевой автолизат как источник азотистого витаминного питания микроорганизмов. Труды Всес. н.-иссл. витаминного ин-та, 1953, т. 4, стр. 65—73.

Сорокин Ю. И. Об участии фосфата в хемосинтезе у сульфатвосстанавливающих бактерий. ДАН СССР, 1954, т. 95, № 3, стр. 661—663.

Сорокин Ю. И. Химизм процесса водородной реакции сульфатов. Труды Ин-та микробиологии АН СССР, 1954, вып. 3, стр. 21—34.

Теппер Е. З. Разложение лигнина и микроорганизмы, участвующие в этом процессе. Моск. с.-х. академия им. К. А. Тимирязева. Реф. докл., 1954, вып. 19, стр. 158—165.
Тимофеева А. Г. Азотное и углеродное питание почвенных спорообразующих бактерий. Труды Ин-та микробиологии АН СССР, 1954, вып. 3, стр. 98—124.
Товарницкий В. И. и Воробьева М. М. Влияние аденозинтрифосфорной кислоты на размножение вируса гриппа. ДАН СССР, 1954, т. 97, № 5, стр. 915—918.
Федоров М. В. Химизм процессов дыхания по современным данным. II. Изв. Тимиряз. с.-х. акад., 1954, вып. 2, стр. 137—156.
Фениксов Р. В. и Кинзбурская Ф. М. Получение препаратов бактериальной амилазы. Труды Всес. н.-иссл. ин-та спирт. промышл., 1954, вып. 3, стр. 128—139.
Фениксова Р. В., Кинзбурская Ф. М. и Шилова А. А. Влияние состава питательной среды и способов выращивания на образование амилолитических ферментов у гриба Aspergillus oryzae. Труды Всес. н.-иссл. ин-та спирт. промышл., 1954, вып. 3, стр. 110—127.
Физиология бактерий. Пер. с англ. Е. Н. Кондратьевой и В. Л. Мехтиевой. Под ред. и с предисл. акад. В. Н. Шапошникова, М., Изд-во иностр. лит-ры, 1954, 548 стр.
Фролова Л. Ф. Влияние различных условий культивирования актиномицетов на их антибиотическую деятельность. Изв. АН Казах. ССР, № 127, сер. физиол. и мед., 1954, вып. 3, стр. 76—80. Резюме на казах. яз.
Чернобыльская М. Н., Русько А. Н. и Вербская А. Я. Влияние некоторых зольных элементов на развитие ацетоно-бутиловых бактерий. Науч. зап. Киев. ун-та, т. 12, вып. 7. Труды биол.-почв. фак., 1953, № 9, стр. 27—35.
Шарковский Я. Количественное определение щавелевой кислоты в культуре Mycobacterium. Бюлл. Польской Акад. наук, 1954, т. 2, вып. 3, стр. 103—106.
Шорин В. А. и Сазыкин Ю. О. Влияние аэробных и анаэробных условий роста бактерий на антибактериальную активность альбомицина и других антибиотиков. ДАН СССР, 1954, т. 96, № 3, стр. 645—647.
Этингоф Р. Н. и Елина Е. М. О сохранности энзиматических препаратов декарбоксилаз аминокислот. Биохимия, 1954, т. 19, вып. 1, стр. 1—2.
Юркевич В. В. Выделение инвертазы дрожжевыми клетками. ДАН СССР, 1954, т. 97, № 2, стр. 329—332.
Юркевич В. В. и Швейкина Р. В. Образование активной инвертазы у Saccharomyces globosus. ДАН СССР, 1954, т. 97, № 2, стр. 297—300.

в) Методы и техника исследования

Балтрашевич А. К. О возможности получения элективных питательных сред, основанных на применении глюкозидов. Журн. микробиол. и иммунол., 1954, № 12, стр. 82.
Бучнев К. Н. Горохово-гидролизные питательные среды. Труды Дальневост. зонального н.-иссл., вет. ин-та, т. 3, стр. 26—33.
Дианова Е. В. и Ворошилова А. А. Метод обнаружения патогенных бактерий с помощью биологических антисептиков. Гигиена и санитария, 1954, № 5, стр. 35—38.
Ижмяков С. Ф. Метод изолирования отдельных особей жирных микроорганизмов. Сб. трудов Арханг. мед. ин-та, 1954, вып. 12, стр. 252—255.
Кореняко А. И. Способ сохранения актиномицетов в сухом состоянии. Труды Ин-та микробиологии АН СССР, 1954, вып. 3, стр. 221—223.
Лопатина Г. В., Лазарева Н. М. Метод ускоренного выращивания клубеньковых бактерий. Труды Всес. н.-иссл. ин-та с.-х. микробиологии, 1953, т. 13, стр. 96—103.
Методики микробиологических исследований почвы и корневой системы растений, принятые на пленуме. Сб. «Роль микроорганизмов в питании растений», М., Изд-во ВАСХНИЛ, 1953, стр. 131—142.
Микробиологические методы определения витаминов и аминокислот. Сборник статей. Пер. с англ. Э. М. Диканской. Под ред. и с предисл. К. Л. Поволоцкой, М., Изд-во иностр. лит-ры, 1954, 308 стр.
Тюков Д. М., Крупина А. П. и Пономарева А. М. Специальная характеристика и бактерицидный эффект излучения эритемных люминесцентных ламп. Гигиена и санитария, 1954, № 1, стр. 10—12.
Улендеев А. И. О методике выделения и подсчета ацидофильных бактерий. Сб. науч. трудов Иван. с.-х. ин-та, 1954, вып. 12, стр. 226—230.

II. СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ

Кублановская Г. М. Роль микроорганизмов в сельском хозяйстве. Ташкент, 1954 56 стр. На узбек. яз.
Рубенчик Л. И. Координационное совещание по вопросам научно-исследовательской работы в области сельскохозяйственной микробиологии. Мікробіол. журн., 1953, т. 15, вып. 4, стр. 71—73. На укр. яз.

а) Почвенная микробиология, бактериальные удобрения

Авдеева А. А. Влияние плантажной обработки под виноградники на южных черноземах на деятельность почвенных микроорганизмов. Почвоведение, 1954, № 4 стр. 74—76.

Авдеева А. Г. Влияние перемещения почвенных слоев при плантаже на жизнедеятельность почвенных микроорганизмов. Науч. сессия, посвящ. 125-летию первых эксперим. насаждений винограда в «Магарач», 1954, стр. 59—60.
Авдонин Н. С. и Худякова Ю. А. Гранулированные удобрения и микроорганизмы почвы. Вопросы повышения плодородия почв. Сб. статей, 1954, стр. 67—82.
Авдонин Н. С. и Худякова Ю. А. О способах эффективного использования азотогена. Вопросы повышения плодородия почв... Сб. статей 1954, стр. 83—103.
Адо Ю. В. Микоризообразователи древесных пород. Труды Арханг. лесотехн. ин-та им. Куйбышева, 1954, т. 14, стр. 84—95, с табл.
Африкян Э. К. Антагонистическое действие спорообразующих бактерий на культуру азотобактера. Труды Ин-та микробиологии АН СССР, 1954, вып. 3, стр. 154—165.
Африкян Э. К. О закономерности эколого-географического распространения Bac. mycoides и Bac. mesentericus. в свете данных межвидового антагонизма. Труды Ин-та микробиологии АН СССР, 1954, вып. 3, стр. 144—153.
Бажина Е. В. О распределении почвенных грибов в некоторых окультуренных почвах Кировской области. Труды Киров. с.-х. ин-та, 1954, т. 10, вып. 1, стр. 71—80.
Бельтюкова К. И. Влияние азотобактерина на поражаемость сельскохозяйственных растений бактериальными болезнями. Вопросы применения бактериальных удобрений, Киев, АН СССР, 1953, стр. 128—133.
Бельтюкова К. И. О совместном применении протравителей и азотобактерина для предпосевной обработки семян. Мікробіол. журн., 1954, т. 16, вып. 2, стр. 75. На укр. яз. Резюме на рус. яз.
Березова Е. Ф. О роли микроорганизмов в питании растений. Сб. «Роль микроорганизмов в питании растений», М., Изд-во ВАСХНИЛ, 1953, стр. 6—18.
Березова Е. Ф. и Ремпе Е. Х. Бактериостатические вещества как фактор регулирования микрофлоры в корневой системе растений. Труды Всес. н.-иссл. ин-та с.-х. микробиологии, 1953, т. 13, стр. 87—95.
Березова Е. Ф., Шаин С. С., Ремпе Е. Х. Микрофлора корневой системы многолетних трав в чистом посеве и травосмеси. Труды Всес. н.-иссл. ин-та с.-х. микробиологии, 1953, т. 13, стр. 57—66.
Береснева В. Н. Незримые помощники. Наука и жизнь, 1953, № 12, стр. 14—16.
Береснева В. Н. Микроорганизмы и плодородие почв. Стенограмма публичной лекции. Л., 1954, 16 стр.
Береснева В. Н. и Ляпшина З. Ф. Роль почвенной микрофлоры в образовании и разрушении структуры почвы. Труды Всес. н.-иссл. ин-та с.-х. микробиологии, 1953, т. 13, стр. 42—50.
Бернард В. В. Об эффективности нитрагина под клевер в условиях высокой агротехники. Труды Всес. н.-иссл. ин-та с.-х. микробиологии, 1953, т. 13, стр. 120—123.
Бершова О. И. Применение азотобактерина на почвах Полесья УССР. Мікробіол. журн., 1954, т. 16, вып. 3, стр. 3—13. На укр. яз. Резюме на рус. яз.
Билай В. И., Заневич В. Е. и Вьюн А. А. Развитие грибов в ризосфере хлопчатника. Мікробіол. журн., 1954, т. 16, вып. 4, стр. 12—18. На укр. яз. Резюме на рус. яз.
Блинков Г. Н. Влияние засоления на развитие и азотфиксацию азотобактера. Труды Томск. ун-та, 1954, т. 130, стр. 51—56.
Блинков Г. Н. Морфологические свойства азотобактера сибирских почв. Труды Томск. ун-та, 1954, т. 130, стр. 42—50.
Блинков Г. Н. О распространении азотобактера в почвах Сибири. Труды Томск. ун-та, 1954, т. 130, стр. 31—41.
Блинков Г. Н. О распространении Clostridium pasteurianum в почвах Сибири. Уч. зап. Томск. пед. ин-та, 1954, т. 11, стр. 151—162.
Богомолова Е. В. Бактериальные удобрения — на службу урожаю, Свердловск, Кн. изд-во, 1954, 24 стр.
Бородулина С. Изменение активности клубеньковых бактерий в полях севооборотов. Труды Всес. н.-иссл. ин-та с.-х. микробиологии, 1953, т. 13, стр. 108—113.
Боярович Н. Бактериальные удобрения — верное средство повышения урожаев. Сельское хозяйство Казахстана, 1954, № 2, стр. 25—26.
Боярович Н. М. Бактериальные удобрения. Земледелие, 1954, № 2, стр. 112—114.
Былинкина В. Н. Влияние лесных полос и орошения на микробиологический режим черноземных почв Каменной степи. Труды Всес. н-иссл. с.-х. ин-та микробиологии, 1953, т. 13, стр. 22—27.
Былинкина В. Н., Перцева А. Н. Микрофлора черноземных почв и ее значение для корневого питания растений. Труды Всес. н.-иссл. с.-х. ин-та микробиологии, 1953, т. 13, стр. 5—13.
Былинкина В. Н., Фишкова Э. С. Влияние длительного применения удобрений на микрофлору черноземных почв. Труды Всес. н.-иссл. ин-та с.-х. микробиологии, 1953, т. 13, стр. 28—32.
Веденяпина Н. С. О влиянии азотобактера на рост сеянцев дуба. Лесное хозяйство, 1954, № 5, стр. 48—51.
Вехов Н. К. О влиянии древесных насаждений на почву, напочвенный покров и лесовозобновление в лесостепи. Бюлл. Главн. бот. сада, 1954, вып. 19, стр. 3—11.
Власюк П. А. Добротворская К. М. и Грибанов В. М. Распространение

и активность азотобактера в орошаемых и неорошаемых районах юга УССР. Науч. зап. Киев. ун-та, т. 12, вып. 7. Труды Биол.-почв. фак-та, 1953, № 9, стр. 13—20.
Возняковская Ю. М. Взаимоотношения между целлюлозоразлагающими бактериями и азотобактером. Агробиология, 1954, № 4, стр. 81—85.
Возняковская Ю. М. Количественное определение микоризных грибов в почвах. Труды Всес. н-иссл. ин-та с.-х. микробиологии, 1953, т. 13, стр. 169—172.
Возняковская Ю. М. и Рыжкова А. С. Влияние смеси органических и минеральных удобрений на микрофлору почвы. Доклады ВАСХНИЛ, 1954, вып. 6, стр. 30—33.
Гаврилов В. Г. и Федоров Б. И. Местное внесение торфоперегнойных смесей и фосфоробактерина в школе сеянцев. Агробиология, 1954, № 5. стр. 105—109.
Геллер И. А. Подкормка сахарной свеклы азотобактерином. Земледелие, 1954, № 6, стр. 61—64.
Геллер И. А. Применение биопрепаратов под сахарную свеклу. Вопросы применения бактериальных удобрений, Киев, АН УССР, 1953, стр. 68—77.
Геллер И. А. Роль микроорганизмов в питании растений сахарной свеклы. Сб. «Роль микроорганизмов в питании растений», М., ВАСХНИЛ, 1953, стр. 105—110.
Гельцер Ф. Ю., Воронкова Е. А. К вопросу о необходимости обработки желудей микоризными грибами. Труды Всес. н-иссл. ин-та с.-х. микробиологии, 1953, т. 13, стр. 156—168.
Гельцер Ф. Ю. и Воронкова Е. А. Приемы, способствующие выделению чистых культур микоризных грибов. Труды Всес. н-иссл. ин-та с.-х. микробиологии, 1953, т. 13, стр. 152—155.
Георгиу Н. А. О микотрофном питании овсов. Агробиология, 1954, № 4, стр. 122—125.
Гербардт А. Г. Некоторые пути повышения эффективности азотобактерина. Вопросы применения бактериальных удобрений, Киев, АН УССР, 1953, стр. 101—112.
Гербгардт А. Г. и Дубинина Н. А. Влияние гранулированного суперфосфата на микрофлору почвы. Мікробіол. журн., 1953, т. 15, вып. 4, стр. 55—62. Текст на укр. яз. Резюме на рус. яз.
Горленко М. В. Корневое питание и некоторые вопросы защиты растений. Агробиология, 1954, № 6, стр. 86—90.
Грибанов В. М. К изучению влияния различных доз меди и марганца на фиксацию азота Azotobacter chroococcum. Мікробіол. журн., 1954, т. 16, вып. 3, стр. 18—21. На укр. яз. Резюме на рус. яз.
Гукова М. М. Влияние азотных удобрений на азотфиксацию бобовых растений. Питание растений и удобрения. Сб. науч. работ по агроном. химии, 1954, стр. 108—119.
Гукова М. М. Инокуляция как фактор повышения урожая семян бобовых растений. Питание растений и удобрения. Сб. науч. работ по агроном. химии, 1954, стр. 100—107.
Гуреева В. М. Наблюдения над процессами микробного антагонизма в почве полей орошения. Сб. Биол. фак-та Одес. ун-та, 1953, т. 6, стр. 27—31.
Данелия М. К. Микробиологические процессы в красноземной почве и влияние различных удобрений на видовой состав бактерий. Бюлл Всес. н.-иссл. ин-та чая и субтроп. культур, 1954, № 2, стр. 123—131.
Дианова Е. И. Микробиологическое исследование торфокомпостов. Сообщ. 1. Мікробіол. журн., 1954, т. 16, вып. 4, стр. 50—56. На укр. яз. Резюме на рус. яз.
Доросинский Л. М. Бактериальные удобрения. М.— Л., Сельхозгиз, 1953, 67 стр.
Доросинский Л. М. К вопросу о роли микроорганизмов в корневом питании растений. Сб. «Роль микроорганизмов в питании растений», М., Изд-во ВАСХНИЛ, 1953, стр. 19—21.
Доросинский Л. М. Бактериальное удобрение — фосфоробактерин, М., Изд-во Мин-ва сельского хозяйства СССР, 1954, 1 л., слож. в 6 стр.
Доросинский Л. М., Ламповщиков П. К. и Сурман К. И. Выращивание азотобактера глубинным способом. Труды Всес. н.-иссл. ин-та с-х. микробиологии, 1953, т. 13, стр. 124—130.
Доросинский Л. М. и Лопатина Г. В. Бактериальные удобрения (нитрагин, фосфоробактерин) и некоторые вопросы их применения. Вопросы применения бактериальных удобрений, Киев, АН УССР, 1953, стр. 33—42.
Езубчик А. А. Бактериальные удобрения — одно из важнейших средств повышения урожайности, Минск, 1954, 16 стр.
Езубчик А. А. и Канашевич Э. И. К изучению влияния органо-минеральных гранул суперфосфата на микрофлору почвы. Сб. науч. трудов Ин-та соц. сельского хозяйства Акад. наук Белорус. ССР 1953, вып. 2, стр. 168—187.
Заирова К. С. Опыт применения «санитарного числа» как химического показателя для оценки почв Узбекской ССР. Гигиена и санитария, 1954, № 2, стр. 18—22.
Зак Г. П. Влияние бактеризации силикатными бактериями и азотобактером на урожай яровой пшеницы на фоне внесения гранулированного суперфосфата в рядки. Сб. «Роль микроорганизмов в питании растений», М., Изд-во ВАСХНИЛ, 1953, стр. 103—104.
Заремба В. П. Естественная инокуляция бобовых культур клубеньковыми бактериями и нитрагин. Вопросы применения бактериальных удобрений, Киев, АН УССР, 1953, стр. 51—57.

Заремба В. П. Распространение азотобактера в ризосфере яровой пшеницы и эффективность применения азотобактерина. Сб. «Роль микроорганизмов в питании растений», М., Изд-во ВАСХНИЛ, 1953, стр. 79—83.

Заремба В. П. и Синявская Л. А. Распространение азотобактера в ризосфере сельскохозяйственных культур и эффективность азотобактерина. Науч. Труды Укр. н.-иссл. ин-та соц. земледелия, 1954, т. 7, стр. 118—131.

Зиновьева Х.-Г. Влияние ризосферы некоторых сельскохозяйственных растений на азотобактер. Сб. «Роль микроорганизмов в питании растений», М., Изд-во ВАСХНИЛ, 1953, стр. 74—78.

Зиновьева Х. Г. Влияние ризосферы некоторых сельскохозяйственных растений на азотобактер. Сообщ. IV. Влияние корневой системы сахарной свеклы на азотобактер. Мікробіол журн. 1954, т. вып. 2, стр. 3—12. На укр. яз. Резюме на рус. яз.

Зиновьева Х. Г. Изменчивость азотобактера в корневой системе некоторых культурных растений. Агробиология, 1954, № 5, стр. 96—104.

Зиновьева Х. Г. и Маракулина П. Ф. Применение азотобактерина под хмель на почвах Украинского Полесья. Вопросы применения бактериальных удобрений. Киев, АН УССР, 1953, стр. 58—67.

Зиновьева Х. Г., Митасова Е. В., Канторович Р. М., Бондаренко М. М. О хранении азотобактерина. Мікробіол. журн., 1954, т. 16, вып. 2, стр. 20—24. На укр. яз. Резюме на рус. яз.

Ивушкин И. Ф. Влияние суперфосфата и аммиачной селитры на корневую микрофлору люцерны. Мікробіол. журн., 1954, т. 16, вып. 1, стр. 66—70. На укр. яз. Резюме на рус. яз.

Исакова А А. Микроорганизмы злаковобобовой травосмеси и их изменения под влиянием агротехнических приемов. Сб. «Роль микроорганизмов в питании растений», М., Изд-во ВАСХНИЛ, 1953, стр. 111—117.

Использование микроорганизмов для повышения урожайности сельскохозяйственных культур и плодородия почвы. Сб. статей. Под ред. акад. И. И. Самойлова и д-ра биол. наук Е. Ф. Березовой, М.— Л., Сельхозгиз, 1953, 194 стр.

Калниньш А. Д. Активность и вирулентность клубеньковых бактерий клевера. Труды Ин-та микробиологии АН СССР, 1953, вып. 2, стр. 167—181.

Калниньш А. Д. Распространение и активность клубеньковых бактерий клевера в почвах Латвийской ССР. Науч. сессия по вопросам биологии и сельского хозяйства, Рига, 22—26 октября, 1951 г., стр. 122—133, М., Изд-во АН СССР, 1953.

Карагулян С. А. Фосфоробактерии. Ереван, Изд-во АН Арм. ССР, 1954, 20 стр. На арм. яз.

Касимова Г. С. и Пакусин А. Г. Чашечный метод количественного учета бактерий-антагонистов в почве. Доклады Академии наук, Азербайдж. ССР, 1954, т. 10, № 2, стр. 145—148. Резюме на азербайдж. яз.

Квасников Е. И. и Николюк В. Ф. К вопросу о путях происхождения бактерий и простейших в окультуренных почвах Узбекистана. Доклады Акад. наук УзССР, 1954, № 5, стр. 67—71. Резюме на узбек. яз.

Квасников Е. И. и Петрушенко О. П. Некоторые особенности влияния ришганской битуминозной породы, нефтепродуктов и ангренской угольной пыли на микроорганизмы почвы. Изв. АН УзССР, 1954, № 4, стр. 69—77. Резюме на узбек яз.

Котелев В. В. Результаты опытов по применению бактериальных удобрений в Каларашском районе за 1953 г. Изв. Молдав. филиала АН СССР, 1953, № 5 (13), стр. 77—85. На рус. яз. Резюме на молдав. яз.

Котелев В. В. и Гаркавенко А. И. Поступление фосфора в клетки микроорганизмов и передача его растению на примере накопления радиоактивного изотопа P^{32}. Изв. Молдав. филиала АН СССР, 1954, № 1, стр. 47—57, с табл. Резюме на молдав. яз.

Красильников Н. А. Микроорганизмы и плодородие почв. Изв. АН СССР, сер. биол., 1954, № 2, стр. 14—39.

Красильников Н. А. Азотофиксация на горных вершинах. Науч. сессия, посвящ. 125-летию первых эксперим. насаждений винограда в «Магарач», 1954, стр. 49—50.

Красильников Н. А. О роли микробов в жизни растений. Стенограмма публичной лекции..., М., «Знание», 1954, 29 стр.

Красильников Н. А. Образование и накопление антибиотических веществ в почве. ДАН СССР, 1954, т. 94, № 5, стр. 957—960.

Красильникова-Крайнова А. И. Адсорбция клубеньковых бактерий различными типами почв и ее влияние на эффективность применения нитрагина. Уч. зап. Горьк. ун-та, 1954, вып. 25, стр. 95—100.

Красильникова-Крайнова А. И. Влияние подкормок на микрофлору почвы. Уч. зап. Горьк. ун-та, 1954, вып. 25, стр. 111—118.

Красильникова-Крайнова А. И. Влияние различных дозировок нитрагина на урожай бобовых культур. Уч. зап. Горьк. ун-та, 1954, вып. 25, стр. 101—110.

Кривых Ф. П. Почва с парового поля как бактериальное удобрение. Доклады ВАСХНИЛ, 1954, вып. 2, стр. 16—20.

Кудзин Ю. К. Эффективность бактериальных удобрений в степи УССР. Вопросы применения бактериальных удобрений, Киев, АН УССР, стр. 113—127.

Куклина-Хрущева Е. П. Значение микоризы для развития пшеницы. Сб. «Роль микроорганизмов в питании растений», М., Изд-во ВАСХНИЛ, 1953, стр. 38—44.

Куликова Л. И. Влияние гранулированных удобрений и азотобактера на растения пшеницы в условиях Омской области. Агробиология, 1954, № 4, стр. 75—80.

Куликовская М. Д. Влияние азотобактера на динамику азота в почве. Мікробіол. журн., 1954, т. 16, вып. 4, стр. 40—49. На укр. яз. Резюме на рус. яз.

Лазарев Н. М. Активность местных штаммов клубеньковых бактерий клевера. Труды Всес. н.-иссл. ин-та с.-х. микробиологии, 1953, т. 13, стр. 114—119.

Лазарев Н. М., Былинкина В. Н., Байко В. П., Перцева А. Н. Значение подпахотных горизонтов черноземных почв в питании растений. Труды Всес. н.-иссл. ин-та с.-х. микробиологии, 1953, т. 13, стр. 14—21.

Лазарев Н. М. и Доросинский Л. М. О роли микроорганизмов в питании растений в условиях водных культур. Труды Всес. н.-иссл. ин-та с.-х. микробиологии, 1953, т. 13, стр. 67—73.

Лазарев Н. М. и Кондратьев В. Н. Применение бактериального удобрения АМБ для выращивания рассады на торфе и в торфоперегнойных горшочках. Доклады ВАСХНИЛ, 1954, вып. 1, стр. 20—24.

Лазарев С. Ф. Роль микроорганизмов в питании хлопчатника на сероземах и луговых почвах Средней Азии. Сб. «Роль микроорганизмов в питании растений», М., Изд-во ВАСХНИЛ, 1953, стр. 22—27.

Лазарев С. Ф. О роли микроорганизмов в плодородии орошаемых почв. Соц. сельское хозяйство Узбекистана, 1954, № 5, стр. 31—40.

Лазарев С. Ф. Об управлении почвенной микрофлорой в условиях орошаемого хлопководства. Агробиология, 1954, № 6, стр. 10—19.

Линчевская М. П. Опыт применения азотобактерина под яровую пшеницу и кукурузу. Вопросы применения бактериальных удобрений, Киев, АН УССР, 1953, стр. 134—138.

Липшиц В. В. и Чернышева П. С. Влияние некоторых анаэробов почвы на прорастание семян, рост и продуктивность высшего растения. Мікробіол. журн., 1953, т. 15, вып. 4, сфр. 48—54. Текст на укр. яз. Резюме на рус. яз.

Литвинов М. А. О путях формирования и расселения почвенной микроскопической флоры грибов на такырах. Труды Бот. ин-та им. Комарова, сер. 2, 1954, вып. 9, стр. 401—410.

Лопатина Г. В. Применение нитрагина и азотобактерина для повышения урожайности сельскохозяйственных культур, Сб. «Роль микроорганизмов в питании растений», М., Изд-во ВАСХНИЛ, 1953, стр. 57—68.

Лопатина Г. В. Применение азотобактерина повышает урожай, М., Изд-во Мин-ва сельского хозяйства СССР, 1954, 1 л., слож. в 6 стр.

Ляпшина З. Ф. Влияние известкования на развитие микрофлоры и изменение структурного состояния дерново-подзолистой почвы. Труды Всес. н.-иссл. ин-та с.-х. микробиологии, 1953, т. 13, стр. 51—56.

Мазилкин И. А. Влияние углекислого кальция на микробиологические процессы в солонцевато-осолоделых почвах. ДАН СССР, 1954, т. 95, № 2, стр. 341—344.

Макарова Г. Шире применять бактериальные удобрения, Барнаул, Алт. кн. изд-во, 1954, 21 стр.

Мачавариани М. З. Влияние гербицидов на микрофлору почвы. Труды Ин-та полеводства АН Груз. ССР, 1954, т. 8, стр. 99—107. На груз. яз. Резюме на рус. яз.

Меликян Ш. В. Распространение азотобактерий в некоторых типах почв Армянской ССР. Науч. труды Ереван. ун-та, т. 40, сер. биол. наук, 1953, вып. 4, стр. 187—207. На арм. яз. Резюме на рус. яз.

Мельникова В. В. О связи между распространением водорослей в почвах и растительным покровом. ДАН Таджик. ССР, 1954, вып. 10, стр. 41—50.

Менкина Р. А. Фосфоробактерин и его применение в сельском хозяйстве Сб. «Роль микроорганизмов в питании растений», М., Изд-во ВАСХНИЛ, 1953, стр. 84—90.

Мишустин Е. Н. Комплекс Докучаева — Костычева — Вильямса и почвенная микробиология. Науч. сессия по вопросам биологии и сельского хозяйства, Рига, 22—26 октября, 1951 г., М., Изд-во АН СССР, 1953, стр. 113—121.

Мишустин Е. Н. Закон зональности и учение о микробных ассоциациях почвы. Усп. совр. биологии, 1954, т. 37, вып. 1, стр. 1—21.

Мишустин Е. Н. Конференция по микробиологии почв в Чехословакии (февр. 1954 г.). Вестн. АН СССР, 1954, № 8, стр. 64—68.

Мишустин Е. Н. О принципе районирования азотобактерина. Сб. «Роль микроорганизмов в питании растений», М., Изд-во ВАСХНИЛ, 1953, стр. 69—73.

Мишустин Е. Н. О принципе районирования азотогена. Вопросы применения бактериальных удобрений, Киев, АН УССР, 1953, стр. 26—32.

Мишустин Е. Н. Эколого-географическое распространение азотобактера в почвах СССР. Труды Ин-та микробиологии АН СССР, 1954, вып. 3, стр. 81—97.

Мишустин Е. Н. и Гиляров М. С. Микробиология почвы в Чехословакии. Природа, 1954, № 9, стр. 52—55.

Мишустин Е. и Наумова А. О токсическом последействии люцерны на хлопчатник при длительном ее пребывании в хлопково-люцерновом севообороте. Хлопководство, 1954, № 6, стр. 51—56.

Мишустин Е. Н. и Перцовская М. И. Микроорганизмы и самоочищение почвы М., Изд-во АН СССР, 1954, 552 стр.

Мульдер Е. Г. Влияние известкования кислой торфянистой почвы на жизнедеятельность почвенных микроорганизмов. Сельское хозяйство за рубежом, 1954, № 2 стр. 90—93.

Муромцев. С. Н. Роль почвенной микробиологии в повышении урожайности сельскохозяйственных культур. Доклады ВАСХНИЛ, 1953, вып. 10, стр. 42—46.

Наумова А. Н. Активность микрофлоры засоленной почвы при гнездовом способе посева хлопчатника. Труды Ин-та микробиологии АН СССР, 1954, вып. 3, стр. 166—175.

Одинцова С. В. Роль синезеленых водорослей в создании плодородия почвы. Сб. «Роль микроорганизмов в питании растений», М., Изд-во ВАСХНИЛ, 1953, стр. 118—122.

Онучак А. И. и Липес В. Э. Применение нитрагина при посеве арахиса. Труды Всес. н.-иссл. ин-та кондитерской промышлен., 1954. вып. 10, стр. 22—27.

Павлович Д. Я. Распространение азотобактера в почвах Латвийской ССР. Труды Ин-та микробиологии АН Латв. ССР, 1953, вып. 2, стр. 183—198.

Пестинская Т. В. Накопление в почве сапрофитной микофлоры, подавляющей полупаразитные грибы в полях травопольного севооборота. Труды Всес. ин-та защиты растений, 1954, вып. 5, стр. 38—46.

Петербургский А. В. К вопросу о роли микроорганизмов в питании высших растений растворимыми солями и адсорбционно-связанными средой иона. Рефераты докладов, 1954, вып. 20, стр. 165—170.

Петербургский А. В. О значении ризосферных микроорганизмов для усвоения овсом ионов из адсорбентов. Питание растений и удобрения. Сб. науч. работ по агроном. химии, 1954, стр. 82—99.

Петерсон Н. В. Взаимоотношения между клубеньковыми бактериями и некоторыми микроорганизмами почвы. Мікробіол. журн., 1954, т. 16, вып. 3, стр 14—17. На укр. яз. Резюме на рус. яз.

Петренко Г. Я. О специфических и местных расах клубеньковых бактерий и азотобактера. Сб. «Роль микроорганизмов в питании растений», М., Изд-во ВАСХНИЛ, 1953, стр. 84—90.

Попова Т. Е. Корневая микрофлора винограда на сероземных и луговых почвах Узбекистана. ДАН УзССР, 1954, № 5, стр. 61—66. Резюме на узбек. яз.

Попова Т. Е. Некоторые закономерности влияния корневой микрофлоры винограда на его развитие. ДАН УзССР, 1954, № 7, стр. 53—60. Резюме на узбек. яз.

Потехин Л. И. О микробиологической характеристике темносерой лесной почвы. Труды Томск. ун-та, 1954, т. 130, стр. 77—79.

Пронько В и Пономарева А. Шире применяйте бактериальные удобрения в лесном хозяйстве, Минск, 1954, 16 стр.

Пушкинская О. И. Микробиологическая характеристика лесных почв в различных условиях рельефа. Сообщ. Ин-та леса АН СССР, 1954, вып. 2, стр. 45—55.

Пушкинская О. И. Микрофлора лесных почв дубрав Борисоглебского лесного массива. Труды Ин-та леса АН СССР, 1954, т. 23, стр. 209—220.

Ремпе Е. Х. Бактерицидные вещества в семенах клевера и люцерны и их значение для эффективности нитрагинизации. Труды Всес. н.-иссл. ин-та с.-х. микробиологии, 1953, т. 13, стр. 104—107.

Романкова А. Г. О микрофлоре подзолистых почв различных географических районов СССР. Вестн. Ленингр. ун.-та, 1954, № 1, стр. 37—42.

Романкова А. Г. Распространение грибов рода Penicillium в черноземных и каштановых почвах. Вестн. Ленингр. ун-та, 1954, № 1, стр. 43—47.

Рубенчик Л. И. Микробиологические процессы в почве и пути управления имя. Вопросы применения бактериальных удобрений, Киев, АН УССР, 1953, стр. 7—16.

Рубенчик Л. И., Смалий В. Т., Зиновьев Х. Г., Бершова О. И. Изучение местных штаммов азотобактера из почв Украинской ССР. Вопросы применения бактериальных удобрений, Киев. АН УССР, 1953, стр. 43—50.

Рубенчик Л. И., Чернобыльская М. Н., и Кильчевская А. А. Влияние гранозана на Azotobacter chroococcum. Мікробіол. журн., 1954, т. 16, вып. 4, стр. 25—31. На укр. яз. Резюме на рус. яз.

Рубенчик Л. И., Чернобыльская М. Н., Кильчевская А. А. О применении азотобактерина при протравливании семян гранозаном. Мікробіол. журн., 1954, т. 16, вып. 2, стр. 73—74. На укр. яз. Резюме на рус. яз.

Рудаков К. И. и Биркель М. Р. Образование клубеньков и протопектиназные бактерии. Труды Ин-та микробиологии АН СССР, 1954, вып. 3, стр. 125—143.

Рунов Е. В. Микрофлора черноземов под лесными насаждениями в Деркульской степи. Труды Ин-та леса АН СССР, 1954, т. 15, стр. 182—207.

Сабилин А. П. Надежное средство повышения урожайности. Достижения науки и передового опыта в сельском хозяйстве, 1954, № 4, стр. 75—76.

Самойлов И. И. Задачи сельскохозяйственной микробиологии в разработке вопросов питания растений и применения удобрений. Сб. «Роль микроорганизмов в питании растений», М., Изд-во ВАСХНИЛ, 1953, стр. 3—5.

Самойлов И. И., Березова Е. Ф., Чернавин А. С., Возняковская Ю. М., Дорошинский Л. М., Менкина Р. А., Финкельштейн М. Я. Эффективность и условия применения фосфорно-бактериального удобрения. Труды Всес. н.-иссл. ин-та с.-х. микробиологии, 1953, т. 13, стр. 173—192.

Самосова С. М. и Мунина А. А. Динамика микробной флоры и микробиологических процессов в ризосфере красного клевера первого года жизни в условиях полевого травопольного севооборота. Изв. Казан. филиала АН СССР, сер. биол., 1953, вып. 4, стр. 15—25.

Самцевич С. А. Влияние микоризации на рост и развитие однолетних сеянцев дуба в степи. Сб. «Роль микроорганизмов в питании растений», М., Изд-во ВАСХНИЛ, 1953, стр. 45—51.

Сидоров Ф. Ф. Влияние азотобактерина на урожай картофеля. Доклады ВАСХНИЛ, 1954, вып. 1, стр. 25—27.

Соловьев П. Е. Изменение свойств светлокаштановых почв под влиянием лесных культур в пределах Тингутинской лесной дачи. Вестн. Моск. ун-та, 1954, № 5, стр. 101—108.

Солтынский В. П. Основные итоги применения бактериальных удобрений под разные сельскохозяйственные культуры в колхозах и совхозах Украинской ССР и его перспективы. Вопросы применения бактериальных удобрений, Киев, АН УССР, 1953, стр. 17—25.

Танатин Б. Я. Распространение азотобактера в засоленных почвах Северного Таджикистана. Изв. Отд. естеств. наук АН Таджик. ССР, 1954, вып. 7, стр. 15—18.

Теплякова З. Ф. Микробиологические особенности бурых почв Джезказганского района. Труды Ин-та почвоведения АН Казах. ССР, 1953, т. 2, стр. 154—164.

Тимофеева А. Г. Азотное и углеродное питание почвенных спорообразующих бактерий. Труды Ин-та микробиологии АН СССР, 1954, вып. 3, стр. 98—124.

Тихомиров Б. А. и Стрелкова О. С. Микоризы растений Арктики. ДАН СССР, 1954, т. 97, № 2, стр. 337—339.

Тихомирова Л. Д. Действие гранулированных удобрений на микрофлору почвы и на урожай пшеницы. Агробиология, 1954, № 6, стр. 76—85.

Тризно С. И. Бактеризация семян азотобактером как мера борьбы с полеганием яровых зерновых культур на торфяно-болотных почвах. Труды Ин-та мелиорации, водного и болотного хозяйства АН Белорус. ССР, 1954, т. 4, стр. 36—42.

Тулайкова К. П. Бактеризация семян конопли. Вопросы применения бактериальных удобрений, Киев, АН УССР, 1953, стр. 88—100.

Тулайкова К. П. Корневая микрофлора конопли. Сообщ. 1. Количественная характеристика корневой микрофлоры конопли, выращиваемой на разных почвах. Журн. общ. биологии, 1954, т. 15, № 4, стр. 288—302.

Тюменцев Н. Ф., Славина Т. П. и Потехина Л. И. Влияние удобрений в севообороте на растения, биохимические процессы и микрофлору почвы. Труды Томск ун-та, 1954, т. 130, стр. 80—108.

Федоринчик Н. С. и Вандерфлаас Л. К. Влияние антагонистической активности почвенного гриба Trichoderma lignorum Harz. на повышение урожая сельскохозяйственных культур. Труды Всес. ин-та защиты растений, 1954, вып. 5, стр. 17—37.

Федоров М. В. Почвенная микробиология. Уч. пособие для гос. университетов и с. х. вузов, М., «Сов. наука», 1954, 484 стр.

Федоров М. В. и Козлов И. В. Азотфиксирующая активность клубеньковых бактерий в клубеньках сои в разные фазы развития растения. ДАН СССР, 1954, т. 96, № 4, стр. 849—852.

Федоров М. В. и Козлов И. В. Значение физиологического состояния бобового растения для образования клубеньков и усвоения молекулярного азота клубеньковыми бактериями. ДАН СССР, 1954, т. 96, № 3, стр. 641—644.

Федоров М. В. и Непомилуев В. Ф. Распространение и азотофиксирующая активность азотобактера в подзолистой почве под многолетними травами и после подъема пласта. Изв. с.-х. акад. им. Тимирязева, 1954, вып. 3, стр. 57—64.

Федоров М. В. и Свитыч К. А. Специфичность рас клубеньковых бактерий лупина. ДАН СССР, 1954, т. 97, № 6, стр. 1069—1072.

Федоров М. В. и Смирнова В. И. Микробиологическая активность иллювиального горизонта дерново-подзолистых почв. Изв. С.-х. акад. им. Тимирязева, 1953, вып. 3, стр. 133—138.

Федоров М. В. и Смирнов В. И. Изменение микробиологической активности иллювиального горизонта дерново-подзолистых почв в процессе окультуривания. Изв. С.-х. акад. им. Тимирязева, 1954, вып. 1, стр. 169—176.

Филиппова К. Ф. Влияние засоления на азотфиксирующую способность клубеньковых бактерий. Изв. Ест.-н. ин-та при Молотов. ун-те, 1953, т. 13, вып. 7, стр. 661—679.

Фомин А. Е. Влияние бактеризации и микоризации на рост древесных пород. Сб. «Роль микроорганизмов в питании растений», М., Изд-во ВАСХНИЛ, 1953, стр. 52—56.

Хавина Э. С. О выделении актинофагов из почвы. Труды Ин-та микробиологии АН СССР, 1954, вып. 3, стр. 224—229.
Харитон Е. Г. Способы повышения эффективности азотобактера для сахарной свеклы. Вопросы применения бактериальных удобрений, Киев, АН УССР, 1953, стр. 78—87.
Хренова Г. С. Влияние известкования на микробиологическую активность почвы. Труды Ин-та биологии Уральск. филиала АН СССР, 1954, вып. 5, стр. 14—20.
Худяков Я. П. Роль микоризных грибов в питании микотрофных растений. Сб. «Роль микроорганизмов в питании растений», М., Изд-во ВАСХНИЛ, 1953, стр. 28—37.
Частухин В. Я. Динамика микоризообразования на корнях дубков в лесных полезащитных полосах. Труды Ин-та леса АН СССР, 1954, т. 16, стр. 178—191.
Шавловский Г. М. Участие микроорганизмов ризосферы в снабжении растений витаминами. ДАН СССР, 1954, т. 95, № 5, стр. 1101—1104.
Шамис Д. Л. Микроорганизмы в земледелии. Алма-Ата, Изд-во АН КазССР, 1954, 39 стр.
Шелоумова А. М. Влияние гранулированного суперфосфата на размножение азотобактера в почве. Труды Всес. н.-иссл. ин-та с.-х. микробиологии, 1953, т. 13, стр. 141—151.
Шемаханова Н. М. Микотрофия растений. Вестн. АН СССР, 1954, № 3, стр. 86—88.
Штина Э. А. Влияние сельскохозяйственных растений на флору почвенных водорослей. Труды Киров. с.-х. ин-та, 1954, т. 10, вып. 1, стр. 59—69.
Штина Э. А. Изменение флоры почвенных водорослей в севообороте в условиях дерново-подзолистых почв. Бюлл. Моск. об-ва испыт. природы, т. 59, Отд. биол., вып. 5, стр. 59—69.
Эглите А. Облесение сухих верещатников и вопрос о микоризе. На латыш. яз. Резюме на рус. яз. Труды Ин-та лесохозяйств. проблем Латв. Акад. наук, 1953, вып. 7, стр. 111—143.
Эглите А. Опыты по синтезу микоризы. Изв. АН Латв. ССР, 1954, № 8, стр. 91—96. На латыш. яз. Резюме на рус. яз.
Юнг Л. А. Бактериальное удобрение АМБ — важный резерв повышения урожайности. Достижения науки и передового опыта в сельском хозяйстве. 1954, № 4, стр. 72—75.
Юнг Л. А. Эффективность фосфоробактерина на дерново-подзолистых почвах Кировской области. Земледелие, 1954, № 10, стр. 62—70.

СОДЕРЖАНИЕ

Иван Владимирович Мичурин 521

Экспериментальные статьи

И. Л. Работнова, Е. Г. Торопова и М. Ю. Рабаева. Потребности анаэробных бактерий в окислительно-восстановительных условиях среды . . 525
Н. В. Чебуркина и Н. К. Марченко. Действие аминокислот — подавателей фага на обмен фосфора в бактериальной клетке 532
А. А. Имшенецкий, Е. Л. Рубан и О. Д. Бузина. Бесклеточная нитрификация. III. О динамике накопления нитритов 539
С. М. Ждан-Пушкина. Динамика размножения Acetobacter suboxydans и окисление им сорбита на средах с комплексом витаминов В. 545
А. И. Кореняко, О. И. Артамонова и С. В. Летунова. Образование и сохранение антагонистических веществ актиномицетов в почве 550
Е. И. Козлова. Изучение родового и видового состава микрофлоры ризосферы дуба 558
Е. П. Громыко. Экология и некоторые морфологические особенности Bac. megatherium 565
Н. Б. Заварзина. Изучение причин, задерживающих развитие микроорганизмов в толще иловых отложений в оз. Бисерово 573
Н. С. Никитина. Сезонные изменения бактериального состава грунтов литорали восточного Мурмана 580
С. А. Коновалов. Потребление азота дрожжами при многократном их использовании и непрерывном способе брожения 589
М. С. Лойцянская. Использование глюкозы бактериями скорого способа производства уксуса 599
С. Г. Рыбакова. β-нафтол в борьбе с плесневыми грибками, поражающими различный клей на бумаге и картоне 608
Т. А. Мекленбурцева. Bac. prodigiosum на выкормках тутового шелкопряда 611

Дискуссия

С. А. Самцевич. О сезонности и периодичности развития микроорганизмов в почве 615

Обзоры

М. В. Федоров. Новые данные об аммиаке, как первичном продукте фиксации молекулярного азота азотобактером 626

Критика

В. П. Израильский.— М. В. Горленко. Бактериальные болезни растений 638

Хроника

Л. Г. Логинова. Совместное заседание ученых советов института микробиологии АН СССР и Всес. научно-ислседовательского института гидролизной и сульфитно-спиртовой промышленности 641
А. К. Паносян. О научной секции сектора микробиологии АН Арм.ССР, посвященной вопросам эффективности бактериальных удобрений 644
Л. И. Комарова. Совещание по производству ферментных препаратов . . . 646
Л. И. Комарова. Защита диссертаций 646
М. П. Корсакова (некролог) 650
А. А. Бачинская (некролог) 650

Библиография

Библиография 1953—1954 гг. 652

Т-07158 Подписано к печати 20/IX—1955 г. Печ. лист 12,33 +1 вклейка
Уч.-изд. л. 14,7 Формат бумаги 70×108¹/₁₆. Бум. л. 4¹/₂. Тираж 5925 экз. Зак. 1643

2-я типография Издательства Академии наук СССР. Москва, Шубинский пер. 10

Цена 12 руб.

ОТКРЫТА ПОДПИСКА НА ЖУРНАЛЫ АКАДЕМИИ НАУК СССР на 1956 год

Название журналов	Колич. номеров в год	Годовая цена в руб.
Вестник Академии наук СССР	12	96
Доклады Академии наук СССР (без папок)	36	360
Доклады Академии наук СССР (с 6 папками, коленкоровыми и с тиснением)	36	384
Природа	12	84
Физико-математические науки		
Акустический журнал	4	36
Астрономический журнал	6	90
Журнал технической физики	18	225
Журнал экспериментальной и теоретической физики	18	216
Известия Академии наук СССР, серия геофизическая	12	144
Известия Академии наук СССР, серия математическая	6	81
Известия Академии наук СССР, серия физическая	12	144
Кристаллография	8	72
Математический сборник	12	144
Оптика и спектроскопия	12	144
Приборы и техника эксперимента	8	72
Радиотехника и электроника	12	144
Теория вероятностей и ее применение	6	45
Успехи математических наук	8	96
Успехи физических наук	12	120
Физика металлов и металловедение	6	90
Химические науки		
Геохимия	8	72
Журнал аналитической химии	6	72
Журнал научной и прикладной фотографии и кинематографии	6	45
Журнал неорганической химии	12	270
Журнал общей химии	18	270
Журнал прикладной химии	12	180
Журнал физической химии	18	270
Известия Академии наук СССР, Отделение химических наук	12	126
Коллоидный журнал	6	72
Успехи химии	12	96
Геолого-географические науки		
Записки Всесоюзного минералогического общества	4	48
Известия Академии наук СССР, серия географическая	6	90
Известия Академии наук СССР, серия геологическая	12	144
Известия Всесоюзного географического общества	6	54
Биологические науки		
Ботанический журнал	12	180
Биофизика	8	72
Биохимия	6	90
Журнал высшей нервной деятельности им. И. П. Павлова	6	90
Журнал общей биологии	6	45
Зоологический журнал	12	180
Известия Академии наук СССР, серия биологическая	6	72
Микробиология	6	72
Почвоведение	12	144
Успехи современной биологии	6	48
Физиологический журнал СССР им. И. М. Сеченова	12	108
Физиология растений	6	54
Технические науки		
Автоматика и телемеханика	12	108
Известия Академии наук СССР. Отделение технических наук	12	180
Прикладная математика и механика	6	72
Исторические науки		
Вестник древней истории	4	96
Исторический архив	6	90
Советская этнография	4	72
Советское востоковедение	6	72
Правовые науки		
Советское государство и право	8	120
Литературоведение и языкознание		
Вопросы языкознания	6	72
Известия Академии наук СССР, Отделение литературы и языка	6	54

ПОДПИСКА ПРИНИМАЕТСЯ

городскими и районными отделами «Союзпечати» и общественными уполномоченными «Союзпечати» на фабриках и заводах, в научно-исследовательских институтах, учебных заведениях и учреждениях.

Подписка также принимается в магазинах «Академкнига» и конторой «Академкнига»: Москва, Пушкинская, д. 23.